

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНОГО ГИДРОКСИБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ – СОЕДИНЕНИЯ С-38 НА МОДЕЛИ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ У КРЫС

**В. А. Арсланбекова¹, Д. В. Верхоляк², Д. В. Куркин¹,
Д. А. Бакулин¹, Н. В. Атапина², А. К. Брель², С. В. Лисина²**

*Волгоградский государственный медицинский университет,
¹кафедра фармакологии и биофармации ФУВ, ²кафедра химии*

В работе изучено влияние нового производного гидроксибензойной кислоты с ГАМК на выживаемость, неврологический и поведенческий дефицит в течение 72 ч после двусторонней окклюзии общих сонных артерий у крыс. В группе, получившей соединение С-38, наблюдалось снижение летальности и выраженности неврологического дефицита по сравнению с контрольной группой на 32 и 38 % соответственно (на 72 ч). Профилактическое введение соединения С-38 (9 мг/кг) способствовало повышению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в тесте «Открытое поле», а также сохранению памятного следа у животных в тестах «УРПИ» и «ТЭИ». Церебропротекторное действие соединения С-38 было сопоставимо с препаратом сравнения цитиколин.

Ключевые слова: гидроксибензойная кислота, ГАМК, окклюзия общих сонных артерий, неврологический дефицит, крысы.

DOI 10.19163/1994-9480-2017-4(64)-54-57

CEREBROPROTECTIVE ACTIVITY OF C-38 – DERIVATIVE HYDROXYBENZOIC ACID IN RATS WITH BILATERAL COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION

**V. A. Arslanbekova¹, D. V. Verkholyak², D. V. Kurkin¹,
D. A. Bakulin¹, N. V. Atapina², A. K. Brel², S. V. Lisina²**

*Volgograd State Medical University,
¹Department of Pharmacology and Biopharmacy of the Faculty of Physicians' Improvement;
²Department of Chemistry*

The effect of a new hydroxybenzoic acid derivative was studied in rats with bilateral common carotid artery occlusion (BCAO). Mortality, neurological and behavioral deficiency was assessed within 72 hours after BCAO. Preventive C-38 administration (9 mg/kg) resulted in decrease in mortality (by 32 %) and severity of neurologic deficit (by 38 %) compared with the control group treated with vehicle. C-38 administration promoted increase of locomotor activity in the Open Field test, as well as the memory preservation in the active and passive avoidance tests in animals with brain ischemia. The cerebroprotective activity of C-38 was comparable to the citicoline.

Key words: hydroxybenzoic acid, GABA, BCAO, neurological deficit, rats.

По данным Федеральной службы государственной статистики сосудистые заболевания мозга занимают второе место в структуре смертности от болезней системы кровообращения. Среди всех видов инсульта преобладают ишемические поражения мозга, таким образом, являясь проблемой чрезвычайной медико-социальной значимости [1, 5].

При создании церебропротекторных средств интерес представляют вещества, обладающие поливалентным механизмом действия. К таким соединениям можно отнести производные гидроксибензойных кислот с нейроактивными аминокислотами (ГАМК, глутамат и др.). Добавление в структуру гидроксибензойных кислот нейроактивных аминокислот позволяет повысить их биологическую активность, биодоступность, снизить токсичность, уменьшить число и выраженность побочных эффектов исходных средств. Производные ГАМК обладают широким спектром биологической активности, в том числе церебропротекторным и эндотелиопротекторным

действием, способностью влиять на мозговую гемодинамику и трофику мозговой ткани [9]. В связи с этим значительный интерес представляет поиск новых препаратов, полученных на основе модификации структуры ГАМК.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение церебропротекторной активности производного гидроксибензойной кислоты с ГАМК при профилактическом введении крысам с нарушением мозгового кровообращения, вызванной путем окклюзии общих сонных артерий.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 100 беспородных крысах – самцах массой 240–260 г, в возрасте 5–6 месяцев (ФГУП «Питомник лабораторных животных «РАППОЛОВО», д. Рапполово, Ленинградская обл.). Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и гранулированному

корму (ГОСТ Р 51849-2001, ООО «Лабораторкорм», Москва). Все манипуляции с животными проводились с учетом правил, изложенных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств», ч. I. под ред. А. Н. Миронова.

Исследование церебропротекторной активности выполнено на модели ишемии головного мозга (ГМ), воспроизводимой одномоментной необратимой перевязкой общих сонных артерий (ОСА) [9]. В качестве наркоза использовали хлоралгидрат (400 мг/кг, внутривенно). Исследуемое соединение и препараты сравнения вводились однократно перорально за 30 мин до операции.

Были сформированы следующие группы:

1. Ложнооперированные животные ($n = 10$, физ. р-р 0,5 мл/100 г);
2. «Контроль» – животные с окклюзией ОСА ($n = 30$, физ. р-р 0,5 мл/100 г);
3. «С-38» – животные с окклюзией ОСА ($n = 20$, С-38 9 мг/кг);
4. «Цитиколин» – животные с окклюзией ОСА ($n = 20$, цитиколин 500 мг/кг);
5. «Фенибут» – животные с окклюзией ОСА ($n = 20$, фенибут 25 мг/кг).

Летальность и выраженность неврологического дефицита (по шкале McGraw) определялись через 6, 12, 24, 48 и 72 ч после операции. Спустя 72 ч после моделирования окклюзии ОСА были проведены следующие тесты: «Открытое поле», в ходе выполнения которого оценивалась двигательная (количество пересеченных квадратов) и ориентировочно-исследовательская активность (сумма стоек и актов обследования отверстий-норок), тест условной реакции пассивного избегания (УРПИ) и тест «Экстраполяционное избегание» (ТЭИ), в которых оценивалось сохранение памятного следа: латентный период (ЛП) захода в темный отсек и ЛП подныривания соответственно. Обучение и воспроизведение навыка в данных тестах было проведено до моделирования нарушения мозгового кровообращения [7–9].

Статистическая обработка данных проводилась с использованием ПО MS Excel 2013 и Prism 6, а также критериев Шапиро – Уилка, Краскела – Уоллиса, Дана и хи-квадрат [4, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вызванные ишемией расстройства церебральной гемодинамики, патофизиологические и патобиохимические процессы в ткани мозга приводят к дефициту неврологических, когнитивных и мнестической функций у животных, причем степень дефицита неизбежно коррелирует с тяжестью ишемических процессов [5, 10].

Моделирование церебральной ишемии у крыс путем билатеральной окклюзии сонных артерий приводило к гибели животных (табл. 1).

Максимальная летальность животных отмечалась в контрольной группе. При этом гибель наблюдалась уже через 6 часов после моделирования патологии и через 24 ч количество выживших животных в контрольной груп-

пе составило 57 %, а через 72 ч – 33 %. В группе, получившей в качестве лечения соединение С-38, через 72 часа после моделирования ишемии ГМ количество выживших животных составило 65 %, а в группе «Цитиколин» – 90 %.

Таблица 1

Влияние соединения С-38 и препаратов сравнения на выживаемость животных при необратимой билатеральной окклюзии общих сонных артерий (ОСА)

Группа животных	Выживаемость животных после окклюзии ОСА, %				
	6 ч	12 ч	24 ч	48 ч	72 ч
Контроль	90	70	57	47	33
С-38	100	90	75*	70*	65*
Фенибут	90	80	70	60	50
Цитиколин	100	100*	90*	90*	90*

*Различия достоверны по сравнению с группой «Контроль»; $p < 0,05$; критерий χ^2 .

Неврологический дефицит у животных с окклюзией ОСА проявлялся в виде вялости, маневренности движений, парезов и параличей конечностей, одно- и двусторонних блефароптозов. Через 6 ч после операции уровень неврологического дефицита был сопоставим во всех группах животных с ишемией ГМ. Однако в группах, получивших цитиколин и соединение С-38, уже через 12 и 24 ч соответственно наблюдалось снижение среднего балла по шкале McGraw относительно контрольной группы. На протяжении 3 суток в данных группах наблюдалась сопоставимая положительная динамика (табл. 2).

Таблица 2

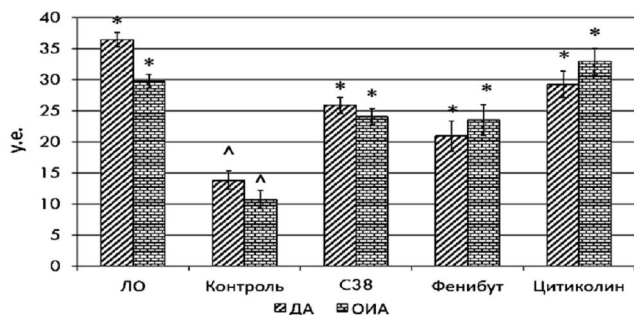
Выраженность неврологического дефицита (шк. McGraw) после окклюзии ОСА, баллы

Группа	Время после необратимой окклюзии ОСА				
	6 ч	12 ч	24 ч	48 ч	72 ч
ЛО	0,9 ± 0,2	0,35 ± 0,13	0,30 ± 0,13	0,20 ± 0,11	0,15 ± 0,11
Контроль	8,6 ± 0,2	8,6 ± 0,2	9,3 ± 0,1	9,4 ± 0,1	9,4 ± 0,2
С-38	8,1 ± 0,2	7,7 ± 0,3	7,6 ± 0,5*	6,7 ± 0,6*	5,8 ± 0,7*
Фенибут	8,1 ± 0,3	8,5 ± 0,3	8,4 ± 0,4	8,7 ± 0,3	8,1 ± 0,6
Цитиколин	6,7 ± 0,5	6,1 ± 0,5*	5,8 ± 0,6*	5,6 ± 0,6*	4,9 ± 0,6*

*Различия достоверны по сравнению с группой «Контроль» ($p < 0,05$; критерий Дана).

Комплексное изучение неврологических симптомов нарушений мозгового кровообращения предполагает оценку поведенческих отклонений и позволяет судить о масштабах поражения отделов нервной системы с возможностью в той или иной мере экстраполяции в клиническую практику [7, 9, 10]. Через 72 часа после моделирования ишемии ГМ у животных оценивалась двигательная и ориентировочно-исследовательская активности в тесте «Открытое поле», а также сохранность памятного следа в тестах «УРПИ» и «ТЭИ».

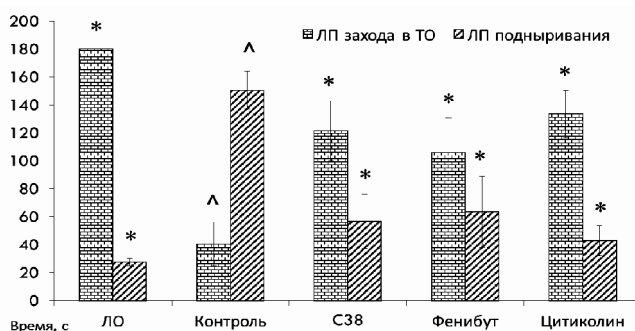
Двигательная и ориентировочно-исследовательская активность животных контрольной группы в тесте «Открытое поле» была значительно снижена относительно группы «ЛО» (рис. 1). В группах, получавших исследуемое соединение и препараты сравнения, наблюдалось значимое повышение количества пересеченных секторов и актов исследовательской активности.



^ΔРазличия достоверны по сравнению с ЛО группой ($p < 0,05$); *различия достоверны по сравнению с группой «Контроль» ($p < 0,05$; критерий Дана).

Рис. 1. Ориентировочно-исследовательская и двигательная активность животных в тесте «Открытое поле» с церебральной ишемией головного мозга: ЛО – ложнооперированные животные; у. е. – условные единицы; ДА – количество пересеченных секторов; ОИА – сумма актов стоек и заглядываний в отверстия

При проведении тестов «УРПИ» и «ТЭИ» у животных контрольной группы отмечались признаки нарушения мнестической функции, что проявлялось в значительном уменьшении латентного периода захода в темный отсек в тесте «УРПИ» и увеличении латентного периода решения экстраполяционной задачи в «ТЭИ». По сравнению с контролем, в группах, получивших лечение, животные в большинстве случаев не заходили в темный отсек в тесте «УРПИ» и значительно быстрее решали задачу в «ТЭИ» (рис. 2).



^ΔРазличия достоверны в сравнении с ЛО ($p < 0,05$); *различия достоверны по сравнению с группой «Контроль» ($p < 0,05$; критерий Дана).

Рис. 2. Латентный период захода в темный отсек в тесте «УРПИ» и решения экстраполяционной задачи в тесте «ТЭИ» (воспроизведение через 72 часа после окклюзии ОСА): ЛП – латентный период; ТО – темный отсек; ЛО – ложнооперированные животные

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном исследовании было установлено, что необратимая окклюзия ОСА приводит к гибели значительной части животных и вызывает выраженный (на протяжении 3 суток) неврологический дефицит у выживших. При этом в группах, предварительно получавших С-38 и цитиколин, наблюдалось сопоставимое снижение летальности и выраженности психоневрологического дефицита.

Исследуемое соединение С-38 представляет собой производное гидроксibenзойной кислоты с ГАМК. Некоторые производные гидроксibenзойных кислот способны проявлять различные виды биологической активности (антиагрегантное, анальгезирующее, противовоспалительное, антиоксидантное и ноотропное действие), что может играть положительную роль в условиях ишемии ГМ [2]. Для производных ГАМК, в свою очередь, характерна способность прерывать патологический каскад ишемии, препятствуя инициации и прогрессированию глутаматной эксайтотоксичности [3].

По результатам ряда сравнительных исследований среди производных ГАМК фенибут способен оказывать церебропротекторное действие при ишемии ГМ [6]. Однако в проведенном исследовании защитное действие фенибута уступало таковому у соединения С38, что может указывать на повышение церебропротекторного потенциала, при добавлении фрагмента гидроксibenзойной кислоты в структуре С-38.

Препарат сравнения цитиколин является предшественником ацетилхолина и участвует в синтезе фосфолипидов мембран клетки. В клинических исследованиях при назначении цитиколина был существенно снижен объем пораженных тканей головного мозга у пациентов с инсультом, а также отмечено влияние на восстановление утраченных функций и показатель ранней смерти [4]. Сопоставимая церебропротекторная активность исследуемого соединения и цитиколина указывает на выраженное церебропротекторное действие С-38 и перспективность дальнейших исследований с целью разработки на его основе препарата для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Профилактическое введение соединения С-38 животным с окклюзией общих сонных артерий увеличивало их выживаемость (на 32 %) и уменьшало степень выраженности психоневрологического дефицита. Оказываемое церебропротекторное действие С-38 было сопоставимо с таковым у цитиколина и превосходило у фенибута.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антошкин О.Н., Загребин В.Л., Волотова Е.В. и др. Протеинопатия и апоптоз нейронов головного мозга при экспериментальной нейродегенерации у крыс // Вестник Волгоград-

ского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1 (53). – С. 122–124.

2. Брель А.К., Тюренков И.Н., Лисина С.В. и др. N-(4-ацетоксибензоил) глицинат калия, обладающий церебропротективным действием. Патент РФ № 2556637 RU, бюл. изобрет. № 19 (2015).

3. Волотова Е.В., Куркин Д.В., Бакулин Д.А. и др. Влияние фенибута на память и поведение крыс различных возрастных групп, подвергшихся 7-дневному комбинированному стрессорному воздействию // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2014. – № 1 (49). – С. 23–25.

4. Воробьев П.А., Безмельницына Л.Ю., Краснова Л.С. и др. Оценка медицинской технологии применения лекарственных препаратов с ноотропным и психостимулирующим действием: кортексин, пирацетам, цитиколин, церебролизин // Клиническая геронтология. – 2013. – Т. 19, № 11–12. – С. 14–25.

5. Гусев Е.И., Мартынов М.Ю., Камчатнов П.Р. и др. Церебральный инсульт // Consilium Medicum. – 2014. – № 12. – С. 13–17.

6. Куркин Д.В. Церебропротекторные свойства композиций фенибута с некоторыми органическими кислотами при нарушениях мозгового кровообращения: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Волгоград, 2013. – 24 с.

7. Тарасов А.С., Морковин Е.И., Степанова В.В. Возможности применения кратковременных стрессирующих воздействий в скрининге биологически активных соединений // Фармация и фармакология. – 2015. – № 3 (10). – С. 66–68.

8. Тарасов А.С., Степанова В.В., Морковин Е.И. Влияние агонистов мелатониновых рецепторов на профиль экскреции 6-сульфатоксимелатонина у крыс, подвергнутых комбинированному стрессу // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – № 4 (56). – С. 110–112.

9. Тюренков И.Н., Волотова Е.В., Куркин Д.В., и др. Нейропротективное и антиоксидантное действие нейроглутама при церебральной ишемии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159, № 3. – С. 344–347.

10. Тюренков И.Н., Куркин Д.В., Бакулин Д.А., и др. Изучение нейропротекторного действия нового производного глутаминовой кислоты – нейроглутама при фокальной ишемии мозга у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77, № 9. – С. 8–12.

REFERENCES

1. Antoshkin O.N., Zagrebina V.L., Volotova E.V. i dr. Proteinopatija i apoptoz neyronov golovnog mozga pri jeksperimental'noj nejrodegeneracii u kryс [Proteinopathy and apoptosis of neurons of the brain during experimental neurodegeneration in rats]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Bulletin of Volgograd State Medical University], 2015, no. 1 (53), pp. 122–124. (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Brel' A.K., Tjurenkov I.N., Lisina S.V. i dr. N-(4-acetoxibenzoil) glicinat kalija, obladaushhij cerebroprotektivnym dejstviem [N-(4-acetoxibenzoil) glycinate potassium, having cerebroprotective effect]. Patent RF, no. 2556637 RU, byul. no. 19 (2015).

3. Volotova E.V., Kurkin D.V., Bakulin D.A. i dr. Vlijanie fenibuta na pamjat' i povedenie kryс razlichnyh vozrastnyh grupp, podvergshijsja 7-dnevnomu kombinirovannomu stressornomu vozdeystviyu [The effect of phenibut on the memory and behavior of rats of different age groups exposed to a 7 day combined stressor effect]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Bulletin of Volgograd State Medical University], 2014, no. 1 (49), pp. 23–25. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Vorob'ev P.A., Bezmel'nicyna L.Ju., Krasnova L.S. i dr. Ocenka medicinskoj tehnologii primenenija lekarstvennyh preparatov s nootropnym i psihostimulirujushhim dejstviem: korteksin, piracetam, citikolin, cerebrolizin [Evaluation of medical technology for the use of medications with nootropic and psychostimulating action: cortexin, piracetam, citicoline, cerebrolysin]. *Klinicheskaja gerontologija* [Clinical gerontology], 2013, Vol. 19, no. 11–12, pp. 14–25. (In Russ.; abstr. in Engl.).

5. Gusev E.I., Martynov M.Ju., Kamchatnov P.R. i dr. Cerebral'nyj insul't [Cerebral stroke]. *Consilium Medicum*, 2014, no. 12, pp. 13–17. (In Russ.; abstr. in Engl.).

6. Kurkin D.V. Cerebroprotektornye svoystva kompozicij fenibuta s nekotorymi organicheskimi kislotami pri narushenijah mozgovogo krovoobrashhenija: avtoref. dis. kand. farm. nauk. [Cerebroprotective properties of phenobut compositions with certain organic acids in cases of cerebral circulation disorders]. Ph. D. (Pharmacology) Thesis]. Volgograd, 2013. 24 p.

7. Tarasov A.S., Morkovin E.I., Stepanova V.V. Vozmozhnosti primenenija kratkovremennyh stressirujushhij vozdeystvij v skrininge biologicheski aktivnyh soedinenij [The possibility of applying short-term stresses in the screening of biologically active compounds]. *Farmacija i farmakologija* [Pharmacy and Pharmacology], 2015, no. 3 (10), pp. 66–68. (In Russ.; abstr. in Engl.).

8. Tarasov A.S., Stepanova V.V., Morkovin E.I. Vlijanie agonistov melatoninovyh receptorov na profil' jekskrecii 6-sul'fatoksimeletonina u kryс, podvergnytyh kombinirovannomu stressu [The effect of melatonin receptor agonists on the excretion profile of 6-sulfatoxymelatonin in rats subjected to combined stress]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Bulletin of Volgograd State Medical University], 2015, no. 4 (56), pp. 110–112. (In Russ.; abstr. in Engl.).

9. Tjurenkov I.N., Volotova E.V., Kurkin D.V., i dr. Nejroprotektivnoe i antioksidantnoe dejstvie nejroglutama pri cerebral'noj ishemii [Neuroprotective and antioxidant effect of neuroglutamate in cerebral ischemia]. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine], 2015, Vol. 159, no. 3, pp. 344–347. (In Russ.; abstr. in Engl.).

10. Tjurenkov I.N., Kurkin D.V., Bakulin D.A., i dr. Izuchenie nejroprotektornogo dejstvija novogo proizvodnogo glutaminovoj kisloty – nejroglutama pri fokal'noj ishemii mozga u kryс [Study of the neuroprotective effect of a new glutamic acid derivative, neuroglutamate, in focal cerebral ischemia in rats]. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija* [Experimental and Clinical Pharmacology], 2014, Vol. 77, no. 9, pp. 8–12. (In Russ.; abstr. in Engl.).

Контактная информация

Куркин Денис Владимирович – к.фарм.н., ассистент кафедры фармакологии и биофармации ФУВ, ВолгГМУ, e-mail: strannik986@mail.ru