

УДК 616-005.4: 615.217.34: 547.756

Н. А. ЦУБАНОВА, С. Ю. ШТРИГОЛЬ

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ТА ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ НОВОЇ СПОЛУКИ — СПІРОЦИКЛІЧНОГО ПОХІДНОГО ОКСІНДОЛУ

Досліджена церебропротекторна активність спіроциклічного похідного оксіндолу, а саме 4,3'-спіро [(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано [3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу]. Експерименти проведені на моделі гострої церебральної ішемії на білих щурах. На другу добу після оперативного втручання у виживших тварин оцінювали показники функціонального стану центральної нервової системи (ЦНС) методом відкритого поля. З'ясовано, що досліджувана сполука виявляє виражену церебропротекторну активність: відбувається значне відновлення показників функціонального стану ЦНС (горизонтальна та вертикальна рухова активність, дослідницька активність). За церебропротекторною дією нова сполука перевищує препарат порівняння пірацетам. Результати другого етапу вивчення гострої токсичності дозволяють віднести сполуку до класу відносно нешкідливих речовин.

Ключові слова: похідні оксіндолу; церебропротекторна активність; гостра церебральна ішемія

ВСТУП

На сьогодні серцево-судинні та цереброваскулярні захворювання належать до найбільш складних і життєвоzagрозливих в Україні [2]. Смертність від хвороб системи кровообігу в Україні посідає перше місце та в 2-4 рази перевищує відповідний показник країн ЄС та світу [13]. За даними офіційної медичної статистики, церебральна судинна патологія зустрічається в українській популяції у три рази частіше, ніж інфаркт міокарда. Щорічно в Україні порушення мозкового кровообігу реєструються в 175 тисяч осіб [2]. Майже 75 % відсотків хворих, які перенесли інсульт, повністю втрачають працездатність, адже ця патологія залишає після себе тяжкі наслідки, зокрема порушення мовлення, пам'яті, координації рухів, паралічі [11].

Проблема своєчасної патогенетичної терапії є найважливішою в ангіоневрології у зв'язку з поширеністю, високим рівнем летальності, значною інвалідизацією та соціальною дезадаптацією пацієнтів, що перенесли гостру цереброваскулярну недостатність [12]. У лікуванні зазначених патологій виділяють первинну та вторинну нейропротекцію [14]. Головним напрямом первинної нейропротекції є корекція дисбалансу збуджувальних та гальмівних нейротрансмітерних систем, зменшення ексайтотоксичності за рахунок переривання швидких механізмів

глутамат-кальцієвого каскаду. Вторинна нейропротекція спрямована на переривання відстрочених механізмів смерті клітин (віддалених наслідків ішемії): надлишкового синтезу оксиду азоту та оксидативного стресу; мітохондріальної дисфункції [6], дисбалансу цитокінів, імунних зсувів, локального запалення, порушень мікроциркуляції та проникності гематоенцефалічного бар'єру; трофічної дисфункції і апоптозу. Ці процеси спричиняють прогресування дифузного пошкодження тканини головного мозку (енцефалопатії) протягом багатьох місяців після перенесеного інсульту [3].

До препаратів, що застосовуються для вторинної нейропротекції, відносяться: антиоксиданти; препарати, що гальмують місцеву запальну реакцію (антагоністи прозапальних цитокінів та молекул клітинної адгезії); препарати для покращення трофічного забезпечення мозку, нейроімунomodulators (нейропептиди).

Сьогодні достатньо детально розроблена тактика фармакотерапії наслідків мозкового інсульту. Проте застосування більшості відомих церебропротекторних засобів викликає значні побічні ефекти, існують протипоказання та негативна взаємодія з іншими лікарськими препаратами. Це суттєво обмежує можливості їхнього використання [5] та свідчить про актуальність питань пошуку та розробки ефективних лікарських засобів церебропротекторної дії.

© Н. А. Цубанова, С. Ю. Штриголь, 2010

Метою нашої роботи було дослідження нової біологічно активної речовини — спіроциклічного похідного оксіндолу, а саме 4,3'-спіро [(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано [3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу] [9], синтезованого канд. фарм. наук Редькіним Р. Г. під керівництвом проф. Шемчука Л. А. на кафедрі органічної хімії НФаУ в умовах експериментальної церебральної ішемії, та вивчення гострої токсичності нової сполуки. Цю сполуку обрано на підставі найвищої антигіпоксичної активності серед 28 нових речовин спіроциклічних похідних оксіндолу [10].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Визначення церебропротекторної активності спіроциклічного похідного оксіндолу, у подальшому сполуки (I), проводили на моделі церебральної ішемії у щурів [7]. Досліди виконано на 40 білих нелінійних щурах масою 170–240 г, що були розподілені на чотири групи. Тваринам першої групи (n=10) вводили сполуку (I) внутрішньоочеревинно в умовно ефективній антигіпоксичній дозі 5 мг/кг у профілактичному режимі протягом трьох діб, в останнє за 1 годину до моделювання церебральної ішемії.

Препарат порівняння пірацетам (друга група, n=10) вводили у тому ж режимі в дозі 200 мг/кг, яка за даними літератури [3] дозволяє виявити церебропротекторний ефект в ішемізованому мозку. Тварини групи інтактного контролю (n=10) отримували наркоз та були псевдооперовані (розріз шкіри на шиї, препарування сонних артерій без перев'язування, ушивання рани). Тварини групи контрольної патології (n=10) отримували наркоз та були оперовані відповідно до методики відтворення церебральної ішемії [7]. Для цього під нембуталовим наркозом (40 мг/кг внутрішньоочеревинно) перев'язували загальні сонні артерії з двох боків, що значно обмежує кровопостачання головного мозку. За цих умов залишається лише кровообіг в басейні хребетних артерій, розвивається ішемія мозку та порушення енергетичного обміну в його тканинах. На другу добу після оперативного втручання у виживших тварин оцінювали функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) за методом відкритого поля [4].

Другим етапом роботи було вивчення гострої токсичності досліджуваної сполуки. Гостру токсичність із розрахунком середньолетальних доз при одноразовому внутрішньощлунковому введенні визначали на білих безпородних щурах масою 180–230 г за методом Пастушенко Т. В. із співавт. Ступінь токсичності оцінювали за класифікацією Сидорова К. К. [4,8].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika 6.0. з використанням критерію Стюдента та кутового перетворення Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження сполуки (I) та референс-препарату пірацетаму за показником виживаності в умовах гострої церебральної ішемії наведені на рис. 1.

Виживаність тварин групи контрольної патології склала 20 %. Під впливом препарату порівняння пірацетаму виживаність збільшилася у 2 рази (40 %), проте не сягнула рівня вірогідних відмінностей. Введення сполуки (I) сприяло збільшенню показника виживаності в 3 рази (60 %), що вірогідно перевищує показник контрольної патології ($p < 0,05$). Ці результати свідчать про значну церебропротекторну активність досліджуваної сполуки за інтегральним критерієм — виживаністю тварин.

Наступним етапом дослідження стало вивчення церебропротекторної активності сполуки (I) та референс-препарату пірацетаму за впливом на показники тесту відкритого поля, де реєстрували горизонтальну рухову активність (кількість перетнутих квадратів), вертикальну рухову активність (стіжки), дослідницьку активність (обстеження отворів), вегетативні реакції (фекальні болюси, уринації) та кількість актів грумінгу, який є маркером емоційності тварин. Результати досліджень наведені на рис. 2–4.

На другу добу після перев'язування обох сонних артерій у щурів групи контрольної патології значно зменшувалися горизонтальний (рис. 2) та вертикальний (рис. 3) компоненти локомоції і кількість обстежених отворів (рис. 4), що свідчить про розвиток неврологічного дефіциту. Пірацетам дещо покращував усі досліджувані

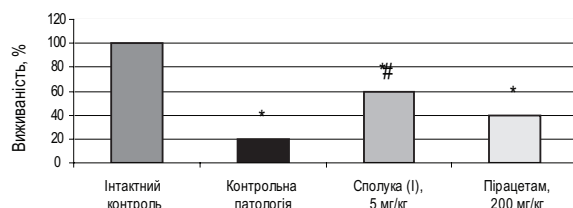


Рис. 1. Церебропротекторна активність сполуки (I) та референс-препарату пірацетаму за впливом на виживаність щурів на моделі церебральної ішемії — білатеральної каротидної оклюзії (n = 10).

Примітки:

1. * — відмінність є достовірною відносно інтактного контролю, $p < 0,001$;
2. # — відмінність є достовірною відносно контрольної патології, $p < 0,05$.

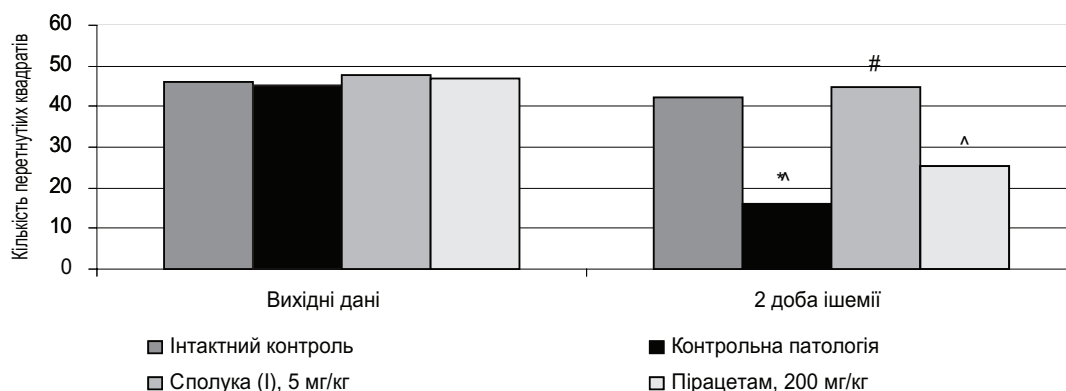


Рис. 2. Показники горизонтальної рухової активності (кількість перетнутих квадратів) за тестом відкритого поля, вихідні дані та в умовах церебральної ішемії.

Примітки:

- 1.* — відмінність є достовірною відносно інтактного контролю, $p < 0,005$;
- 2.# — відмінність є достовірною відносно контрольної патології, $p < 0,05$;
- 3.^ — відмінність є достовірною відносно вихідного показника тієї самої групи, $p \leq 0,05$.

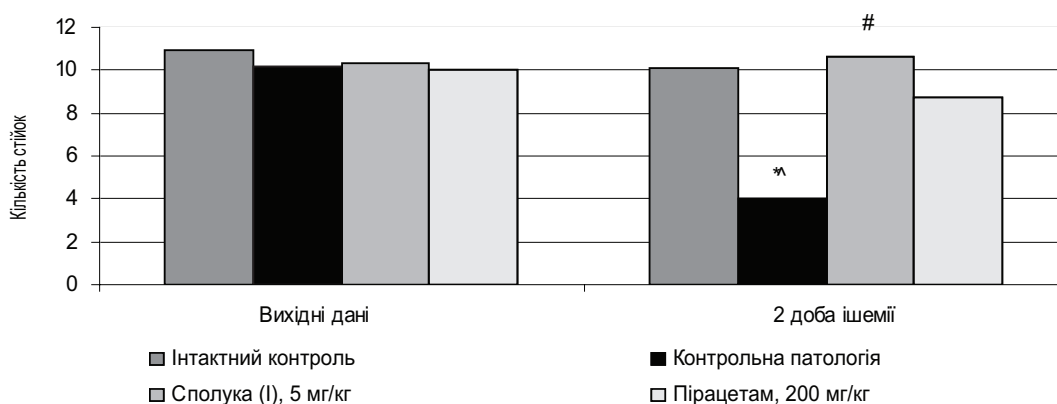


Рис. 3. Показники вертикальної рухової активності (кількість стійок) за тестом відкритого поля, вихідні дані та в умовах церебральної ішемії.

Примітки:

- 1.* — відмінність є достовірною відносно інтактного контролю, $p < 0,005$;
- 2.# — відмінність є достовірною відносно контрольної патології, $p < 0,05$;
- 3.^ — відмінність є достовірною відносно вихідного показника тієї самої групи, $p \leq 0,05$.

показники, але це зростання не сягнуло вірогідного рівня, а горизонтальна рухова активність була вірогідно нижчою, ніж у вихідному стані (рис.2). Сполука (I) на відміну від пірацетаму відновлювала всі зазначені показники до рівня інтактного контролю.

Кількість актів грімінгу та вегетативні реакції, що їх підраховували за кількістю болюсів та уринацій, не зазнали суттєвих змін у всіх групах.

Отже, отримані результати свідчать, що сполука (I) виявляє виражену церебропротекторну активність за критерієм зменшення неврологічного дефіциту, оскільки на другу добу після моделювання ішемії відновлює всі досліджувані показники стану ЦНС: горизонтальна та вертикальна рухова активність, дослідницька активність (до рівня інтактного контролю та вихідних показників).

Механізм церебропротекторної дії 4,3'-спіро [(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано [3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндолу], ймовірно, обумовлено впливом досліджуваної сполуки на різні ланки патогенезу експериментальної церебральної патології.

Показники функціонального стану ЦНС тварин, що отримували досліджувану сполуку, на другу добу експерименту практично відповідають рівню вихідного контролю. Враховуючи незворотні зміни у загальних сонних артеріях, що були перев'язані, можна припустити, що сполука (I) сприяє поліпшенню кровопостачання за рахунок хребетних артерій.

Нейропротективний ефект сполуки (I), можливо, відбувається також за рахунок антиоксидантного та мембранопротекторного ефектів, ос-

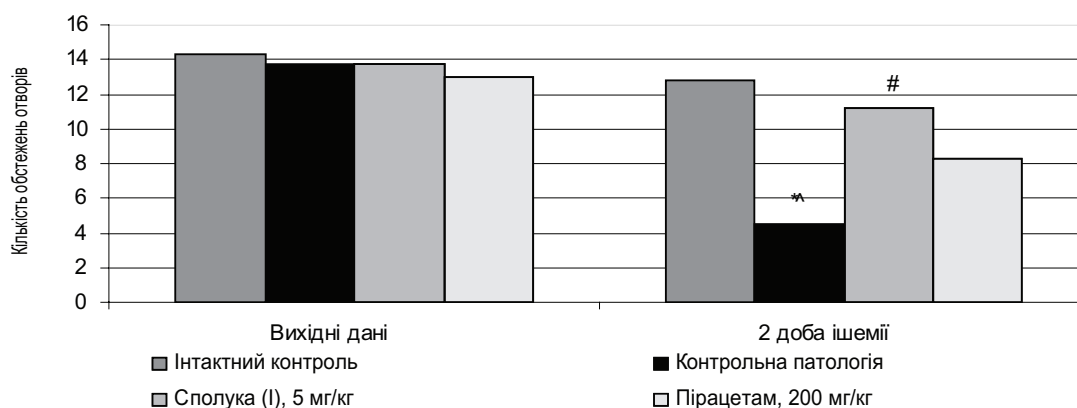


Рис. 4. Показники дослідницької активності (кількість обстежених тварин) за тестом відкритого поля, вихідні дані та в умовах церебральної ішемії.

Примітки:

1.* — відмінність є достовірною відносно інтактного контролю, $p < 0,005$;

2.# — відмінність є достовірною відносно контрольної патології, $p < 0,05$;

3.^ — відмінність є достовірною відносно вихідного показника тієї самої групи, $p \leq 0,05$.

кільки активація перекисного окиснення ліпідів і відповідне порушення функціонального стану мембран є важливою ланкою патогенезу цереброваскулярної патології.

Дослідження гострої токсичності сполуки при пероральному введенні проводили на мишах. Спостереження вели протягом двох тижнів після введення. Результати наведені у таблиці.

Ознак інтоксикації (млявість, зниження рухової активності, втрата апетиту) не виявлено, усі тварини залишалися живими і здоровими. Це вказує на неможливість встановити середньолетальну дозу для щурів при внутрішньоплунковому введенні. Дані таблиці свідчать, що летальна доза досліджуваної сполуки при пероральному введенні перевищує 15000 мг/кг. Відповідно до класифікації Сидорова К.К. до-

сліджувана сполука є відносно нешкідливою речовиною.

ВИСНОВКИ

Результати дослідження нової сполуки — спіроциклічного похідного оксіндолу дозволили встановити її виражену церебропротекторну активність на моделі ішемії головного мозку, яка перевищує активність препарату порівняння пірацетаму. За параметрами гострої токсичності ця сполука відноситься до класу відносно нешкідливих речовин.

Значна церебропротекторна та антигіпоксична активність, низька токсичність обумовлюють доцільність подальшого поглибленого доклінічного дослідження даного спіроциклічного похідного оксіндолу.

Таблиця

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ СПІРОЦИКЛІЧНОГО ПОХІДНОГО ОКСІНДОЛУ НА МИШАХ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ

Доза, мг/кг	Самці		Самки	
	кількість тварин	загибло/вижило	кількість тварин	загибло/вижило
5000	6	0/6	6	0/6
10000	6	0/6	6	0/6
15000	6	0/6	6	0/6

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

2. Віничук С.М. Нейропротекція у гострий період мозкового інсульту/ С.М.Віничук // Укр. мед. часопис. — 2008. — № 3(65). — С. 4–11.
3. Гаевый М.Д., Погорелый В.Е., Аджиенко Л.М., Приходько А.К. Фармакологическая коррекция постишемических цереброваскулярных нарушений. Фармакологическая регуляция тонуса сосудов/Под ред. П.А. Галенко-Ярошевского. — М.: Изд-во РАМН, 1999. — 586 с.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекоменд. / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
5. Компендиум 2007 — лекарственные препараты/Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: МОРИОН, 2007. — 2270 с.
6. Лукьянова Л.Д. Митохондриальная дисфункция — типовой патологический процесс, молекулярный механизм гипоксии.Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты/Под ред. Л.Д. Лукьяновой, И.Б. Ушакова. — М.: Истоки, 2004. — 84 с.
7. Мирзоян Р.С., Саратиков А.С., Плотников М.Б. и др. Методические указания по экспериментальному изучению препаратов для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени:руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: ЗАОИИА «Ремедиум», 2001. — С. 159–161.
8. Сидоров К.К. О классификации токсических ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. — М.: Медицина, 1973. — Вып.13. — С. 47–57.
9. 4,3'-Спіро [(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано [3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол], який проявляє антигіпоксантичну активність /[Р.Г.Редькін, Н.А.Цубанова, В.П.Черних та ін.] —Деклараційний пат. України на винахід UA 87952 C2. — Бюл. №16.— 25.08.2009. — 8 с.
10. Цубанова Н.А. Скринінгові дослідження антигіпоксичної дії спіроциклічних 2-оксіндольних похідних 2-аміно-3-ціано-4н-пірану/ Н.А.Цубанова // Клінічна фармація. — 2009. — Т.13, № 2. — С. 62–64.
11. Ferro J.M. Brain embolism. Answers to practical questions/ J.M.Ferro //J. of Neurol. — 2003. — Vol. 250, № 2. — P. 139–147.
12. Khatri P. For the IMS I and II Investigators. Good clinical outcome after ischemic stroke with successful revascularization is time-dependent/ P.Khatri, T.Abruzzo, S.D.Yeatts et al. //Neurol. — 2009. — № 73. — P. 1066–1072.
13. Lasserson D.S. Initial management of suspected transient cerebral ischaemia and stroke in primary care: implications of recent research/ D.S.Lasserson //Postgrad. Med. J. — 2009. — № 85. — P. 422–427.
14. Natarajan S.K. Safety and Effectiveness of Endovascular Therapy After 8 Hours of Acute Ischemic Stroke Onset and Wake-Up Strokes/[S.K.Natarajan, K.V.Snyder, A.H.Siddiqui et al.] // Stroke. — 2009. — № 40. — P. 3269–3274.

УДК 616-005.4: 615.217.34: 547.756**Н. А. Цубанова, С. Ю. Штрыголь****ИЗУЧЕНИЕ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ И ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ
НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ — СПИРОЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО ОКСИНДОЛА**

Исследована церебропротекторная активность спироциклического производного оксиндола, а именно 4,3'-спиро [(2-амино-3-циано-4,5-дигидропирано [3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксиндола]. Исследования проведены на модели острой церебральной ишемии на белых крысах. На вторые сутки после операции у выживших животных исследовали показатели функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС) методом открытого поля. Установлено, что изучаемое соединение проявляет выраженную церебропротекторную активность, что проявляется в существенном восстановлении показателей функционального состояния ЦНС (горизонтальная и вертикальная двигательная активность, исследовательская активность). По выраженности церебропротекторного действия новое соединение превосходит препарат сравнения пиррацетам. Результаты второго этапа работы, посвященные изучению острой токсичности, позволяют отнести соединение к классу относительно безопасных веществ.

Ключевые слова: производные оксиндола; церебропротекторная активность; острая церебральная ишемия

UDC 616-005.4: 615.217.34: 547.756**N. A. Tsubanova, S. Yu. Shtrygol****THE STUDY CEREBROPROTECTIVE ACTION AND ACUTE TOXIC OF NEW
SUBSTANCES — SPIROCYCLIC OXINDOLIC DERIVATIVES**

The article deals with cerebroprotective action of spirocyclic oxindolic derivatives, namely 4,3'-spiro [(2-amino-3-ciano-4,5-dehydropirane [3,2-c]hromen-5-on)-5-metil-2-oxindolic]. Investigation have been carried out using the model of a cerebrum ischemia at white male rats. The tested substances have been injected in 5 mg/kg dosage. On the second day after operation at animals study by index functional condition the central nervous system method open field. It has been established that the tested substances the noted cerebroprotective activity, what display at vital renewal indexes functional condition nervous system (horizontal and vertical moving active, research active). Revealing cerebroprotective activity the tested substances more than effectiveness of the comparison piracetame. The obtained results second phase work dedication stydy acute toxic, to allow take the tested substances to the class of the relatively harmless substances.

Key words: oxindolic derivatives; cerebroprotective action; acute cerebral ischemia

Адреса для листування:

61002, м. Харків,
пл. Повстання, 17.
ІПКСФ
e-mail: shtzygol@mail.ru

Надійшла до редакції:

09.02.10