

УДК 547.476.2:547.857.3:001.8

## **НООТРОПНА Й АНТИГІПОКСИЧНА АКТИВНІСТЬ ДИНАТРІЄВОЇ СОЛІ 2-(ПІРИДИН-4-ІЛТІО)БУРШТИНОВОЇ КИСЛОТИ В ДОСЛІДАХ *IN VIVO***

**Ю. Петруша**

*Запорізький національний університет  
вул. Жуковського, 66, Запоріжжя 69063, Україна  
e-mail: Yulia.ZNU@mail.ru*

У статті представлені результати визначення ноотропної й антигіпоксичної дії нетоксичної сполуки – динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти. Результати, отримані на стрес-моделі «відкрите поле» й у спрощеному варіанті тесту Морріса (за Лільпом), вказують на ноотропну дію, здатність впливати на просторову пам'ять і наявність протитривожних властивостей цієї сполуки. У тесті Морріса піддослідні тварини під впливом досліджуваної речовини більш ефективно уникали перебування у воді. За цим показником динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти перебуває на рівні еталону порівняння – відомого ноотропного засобу «Пірацетаму», але за вираженістю дії перевищує його. За антигіпоксичною дією на моделі гемічної гіпоксії динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти в дозі 50 мг/кг перевищує «Пірацетам» і вірогідно збільшує час виживаності тварин. При введенні досліджуваної сполуки в дозі 25 мг/кг також спостерігалось вірогідне збільшення часу виживаності мишей майже до рівня «Пірацетаму». Результати досліджень дають змогу рекомендувати динатрієву сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти як перспективну субстанцію для створення на її основі нових нетоксичних ноотропних засобів.

*Ключові слова:* динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти, ноотропна дія, антигіпоксична активність.

Останнім часом значно збільшилася кількість природних і техногенних ситуацій, які призводять до розладів функціонально-метаболічних процесів центральної нервової системи (ЦНС) та судинних захворювань, у тому числі гострих порушень мозкового кровообігу. Провідним пошкоджувальним фактором за умов розвитку судинної патології мозку є гіпоксія. У даний час гіпоксією вважають усі стани організму, при яких із тих чи інших причин знижуються параметри доставки кисню до тканин [8]. Головний мозок відзначається високою інтенсивністю окисних реакцій – становлячи лише 2% від загальної маси людини, він використовує більше 20% усього кисню, що надходить до організму. Провідна роль у механізмі розвитку гіпоксичних порушень належить активації перекисного окиснення ліпідів і утворенню мембранопошкоджувальних вільних радикалів [3, 4, 10].

За цих умов виникає потреба у створенні нових лікарських засобів із церебропротекторною дією. Нині ноотропні препарати (нейрометаболічні церебропротектори) є єдиною групою нейро- та психотропних засобів, унікальність яких ґрунтується на поєднаному впливі на різні ланки функціонально-метаболічних процесів у ЦНС і, поряд із тим, на всю різноманітність вищих психічних функцій.

Але починаючи з 1972 р., тобто з моменту впровадження в клінічну практику першого представника групи ноотропів «Пірацетаму» і аж до недавнього часу прогрес у розробці нових препаратів цієї групи відчувався слабо. Пропоновані нові засоби з ноотропною ак-

тивністю або поступалися «Пірацетаму» за характеристиками ефективності й безпечності, або мали вельми вузький спектр дії, або з різних причин їхні дослідження припинялося на доклінічному етапі [2]. У зв'язку з цим виникла необхідність у препаратах із вираженими ноотропними властивостями та мінімальними побічними діями.

За останнє десятиріччя зріс інтерес до препаратів бурштинової кислоти, яка є джерелом енергії в організмі. Це природна речовина, що бере участь у циклі Кребса і наявна у всіх організмах. Додавання бурштинової кислоти ззовні активує цикл Кребса, що дає змогу прискорити процес виведення недоокиснених продуктів обміну. У клітинах бурштинова кислота відіграє роль енергетичного субстрату, беручи участь у різних біохімічних реакціях. З віком здатність клітин виробляти енергію слабшає, порушуються й багато інших функцій, що призводить до старіння організму. Постійне надходження в організм бурштинової кислоти може запобігти цьому процесу. Бурштинова кислота має антиоксидантну дію, знешкоджує вільні радикали, бере участь у процесі клітинного дихання та сприяє кращому засвоєнню кисню клітинами тканин. На сьогодні відомі такі ефекти бурштинової кислоти: органостимулювальний, цитопротекторний, онкопрофілактичний, імуномодельований, антистресовий, протизапальний, детоксикаційний, вазопротекторний, нейромоделювальний, кардіопротекторний [9, 14].

Вищенаведене спонукало нас до вивчення ноотропної й антигіпоксичної дії динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти, яка, за попередніми дослідженнями, є нетоксичною сполукою ( $LD_{50}$  4960±66 мг/кг) та має значну антиоксидантну й антидепресивну активність [11, 12].

#### Матеріали та методи

Основною групою методів для вивчення ноотропної активності є поведінкові методи.

Загальноприйнятим тестом є визначення орієнтовно-рухової реакції на стрес-моделі «відкрите поле». Вивчення ноотропної дії проводили на інтактних білих дорослих мишах вагою 16–20 г за стандартною методикою [13]. Водний розчин досліджуваної сполуки вводили тваринам внутрішньочеревно за 30 хв до початку тестування в дозі 50 мг/кг. Тварини контрольної групи отримували еквівалентні об'єми фізіологічного розчину. Еталоном порівняння слугував «Пірацетам» (400 мг/кг). Поведінкові реакції тварин оцінювали протягом 5 хв у відкритому полі, розміром 60х60 см. Поле освітлювалося лампою 60 Вт на висоті 1,5 м. Тварин поміщали в центр поля та фіксували горизонтальну активність (кількість пересічених квадратів), вертикальну активність (кількість вставань на задні лапи), дослідну активність (кількість досліджених отворів), а також час і кількість аутогрумінгу та кількість дефекацій (емоційність).

Для тесту водного лабіринту Морріса у спрощеному варіанті (за Лільпом) [5] використовували невеликий квадратний басейн (37х37х15 см), що був заповнений водою (35–37°C), забіленою молоком. В одному з кутів (5 см від борту) стаціонарно занурювали у воду платформу (7х9 см). Дослідження проводили на інтактних білих дорослих мишах вагою 18–22 г. Водний розчин досліджуваної сполуки вводили тваринам внутрішньочеревно за 30 хв до початку тестування в дозі 50 мг/кг. Тварини контрольної групи отримували еквівалентні об'єми фізіологічного розчину. Еталоном порівняння слугував «Пірацетам» (400 мг/кг). Тварину випускали плавати (6 спроб) з протилежного кута басейну. Реєстрували час від знайдення платформи та траєкторію руху тварин і робили висновок про вплив сполук на пам'ять і орієнтацію у просторі.

Визначення антигіпоксичної дії проводили на моделі гемічної гіпоксії на інтактних білих дорослих мишах. Щоб виключити випадковості експериментальних мишей утримували у стандартних умовах віварію та брали на досліди в один і той самий час. Водний

розчин динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти вводили тваринам внутрішньочеревно за 30 хв до початку тестування. Тварини контрольної групи отримували еквівалентні об'єми фізіологічного розчину. Через 45 хв вводили внутрішньочеревно натрію нітрит у летальній дозі 240 мг/кг. Препаратом порівняння слугував «Пірацетам» (400 мг/кг), який в експериментальній фармакології є еталоном при вивченні антигіпоксичної активності, і механізм дії якого пов'язаний з посиленням біосинтезу АТФ [6, 7]. Антигіпоксичний ефект сполуки оцінювали за збільшенням тривалості життя тварин порівняно з контрольною групою [1].

Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою пакету програм Statistica 6.0 і Microsoft Excel for Windows XP. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали вірогідними при  $P \leq 0,05$ .

### Результати і їхнє обговорення

Результати дослідження ноотропної дії динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти в тесті «відкрите поле» наведено на рис. 1. Було встановлено, що під впливом досліджуваної сполуки в дозі 50 мг/кг спостерігалось деяке пригнічення порівняно з контролем горизонтальної рухової активності (ГРА) піддослідних тварин. Але показники вертикальної рухової активності (ВРА) збільшувались майже до рівня препарату порівняння – «Пірацетаму». Інтенсивність грумінгу та кількість дефекацій, які є показниками емоційного стану тварин, а також стану систем вегетативної регуляції відповідно збільшувалась і зменшувалась, але вірогідних змін не було зафіксовано.

Таким чином, збільшення ВРА може вказувати на психостимулюючий (ноотропний) вплив і наявність ансіолітичних (протитривожних) властивостей у динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти.

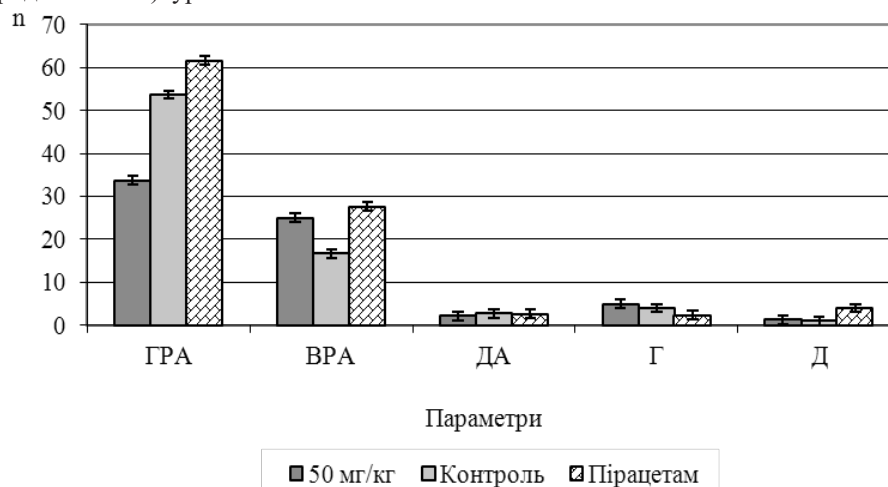


Рис. 1. Поведінкові реакції тварин на моделі «відкрите поле» ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ): ГРА – горизонтальна рухова активність; ВРА – вертикальна рухова активність; ДА – дослідницька активність; Г – грумінг; Д – дефекації; \* –  $P < 0,05$  порівняно з контролем.

Тестування мишей у спрощеному варіанті тесту Морріса показало, що під дією динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти сумарно за 6 проб тесту було вірогідно ( $p < 0,05$ ) більше прямих, швидких (10 секунд і менше) траєкторій руху до платформи. У підсумку миші під впливом динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти більш ефективно уникали перебування у воді. За цим показником сполука перебуває

на рівні речовини порівняння – «Пірацетаму», але за вираженістю дії перевищує його. Час віднайдення платформи з 2-ї спроби становить 9 с і 3 с для «Пірацетаму» та досліджуваної сполуки відповідно, що вказує на значний вплив динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо) бурштинової кислоти на просторову пам'ять (див. таблицю).

Показники впливу сполук на пам'ять і просторову орієнтацію тварин у водному лабіринті Морріса (с;  $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Сполуки	№ спроби		
	1	2	3
Контроль	26,3±1,5	10±0,84	6±0,42
Пірацетам	15±0,87*	9±0,69	7±0,36
Динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти	14,5±0,65*	3±0,12*	2±0,10*

**Примітка.** \* –  $P < 0,05$  порівняно з контролем.

Результати дослідження антигіпоксичної дії динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо) бурштинової кислоти на моделі гемічної гіпоксії наведено на рис. 2. Оскільки динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти виявилася нетоксичною сполукою і вводити її в дозі  $1/10 LD_{50}$  було б недоцільним, то для дослідження були підібрані такі чотири дози: 25, 50, 120 і 250 мг/кг. Після введення летальної дози натрію нітриту тривалість життя тварин контрольної групи становила 35,75 хв. Попереднє введення досліджуваної речовини в дозі 50 мг/кг достовірно продовжувало життя експериментальних тварин до 48,3 хв, що перевищує показник препарату порівняння – «Пірацетаму» (44,5 хв).

Час, хв

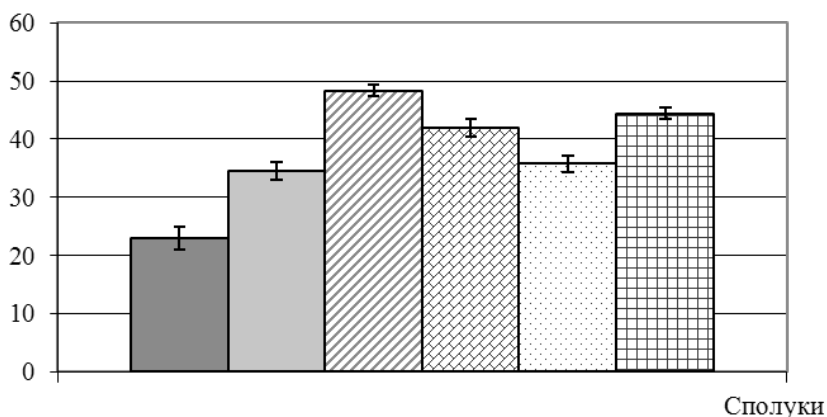


Рис. 2. Тривалість життя піддослідних тварин на моделі гемічної гіпоксії (хв.;  $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

**Примітка.** \* –  $P < 0,05$  порівняно з контролем.

При введенні досліджуваної сполуки в дозі 25 мг/кг також спостерігалось порівняно з контролем вірогідне збільшення тривалості життя мишей майже до рівня «Пірацетаму» (42 хв).

При введенні динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти в дозі 120 мг/кг не відмічається наявності антигіпоксичної активності, показники не відрізняються від контролю (34,5 хв). А при застосуванні дози 250 мг/кг, навпаки, спостерігається скорочення тривалості життя тварин порівняно з контролем (23 хв). Такий ефект досліджуваної сполуки, можливо, пояснюється наявністю у високих дозах аналептичних властивостей. А, як відомо, аналептики підвищують збудливість дихального центру, що

призводить до підвищення частоти і глибини дихання. Аналептики також підвищують тонус скелетної мускулатури, а отже, і витрати кисню, що, ймовірно, скорочує тривалість життя піддослідних тварин у цьому експерименті.

Таким чином, за антигіпоксичною дією динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо) бурштинової кислоти в дозі 50 мг/кг перевищує відомий ноотропний засіб «Пірацетам». Тривалість життя піддослідних тварин порівняно з контролем зростає на 17,5% при введенні сполуки в дозі 25 мг/кг та на 35% – в дозі 50 мг/кг. Тоді як для «Пірацетаму» цей показник становить 24,5%. Антигіпоксичний ефект сполуки, ймовірно, реалізується за рахунок підтримання активності сукцинатаксідазної ланки циклу Кребса [10]. Відомо також, що антигіпоксична активність пропорційна ноотропній ефективності [6].

Отже, підсумовуючи отримані дані, можна зробити висновок, що динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти має значну антигіпоксичну та ноотропну дію, і, враховуючи наявність антиоксидантної й антидепресивної активності, можна рекомендувати цю сполуку як перспективну субстанцію для створення на її основі нових нетоксичних ноотропних засобів.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Амикишишева А. В.* Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // *Вестн. ВОГиС.* 2009. Т. 13. № 3. С. 529–542.
2. *Бурчинський С. Г.* Ноотропи нової генерації – нові можливості фармакотерапії // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2008. № 4 (5). С. 17–20.
3. *Зупанець І. А., Гринцова О. Є.* Церебропротекторна дія похідних глюкозаміну в умовах експериментальної гіпоксії у щурів // *Укр. біофарм. журнал.* 2010. № 1(6). С. 26–29.
4. *Левченкова О. С., Новиков В. Е., Парфенов Э. А.* Антигипоксическая активность новых производных кумарина // *Вятский мед. вестн.* 2004. № 2–4. С. 40–43.
5. *Лилья И. Г., Бизикова Ф. З., Полетаева И. И., Иванов В. И.* Межлинейные различия в способности к обучению мышей линий 101/НУ и СВА в водном лабиринте (модифицированный тест Морриса) // *Бюл. эксперимент. биологии и медицины.* 1997. Т. 124. С. 666–668.
6. *Макаренко Д. М.* Антигіпоксична активність спільної дії Пірацетаму та Гінкго білоба // *Фітотерапія. Часопис.* 2009. № 4. С. 42–43.
7. *Малкова Я. Г., Кальченко Г. П.* Использование различных моделей гипоксии в экспериментальной фармакологии // *Молодой ученый.* 2010. № 3. С. 318–319.
8. *Мерецький В. М.* Особливості забезпечення тканинного метаболізму киснем в умовах черепно-мозкової травми та цукрового діабету // *Патологія.* 2013. № 2 (28). С. 40–44.
9. *Никонов В. В., Павленко А. Ю.* Метаболическая терапия гипоксических состояний // *Медицина неотложных состояний.* 2010. № 3–4 (22–23). С. 23–31.
10. *Оковитый С. В., Суханов Д. С., Запуганов В. А., Смагина А. Н.* Антигипоксиканты в современной клинической практике // *Клиническая медицина.* 2012. № 9. С. 63–68.
11. *Петруша Ю. Ю., Омелянчик Л. О.* Антирадикальна та антиоксидантна активність динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти в дослідках *in vitro* // *Укр. біофарм. журнал.* 2015. № 6. С. 25–29.
12. *Петруша Ю. Ю.* Дослідження антидепресивної активності динатрієвої солі 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти // *Наук. вісн. Східноєвроп. ун-ту. Сер. Біол. науки.* 2015. № 2 (302). С. 191–194.
13. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.*

14. Сливкин А. И., Сироткина Г. Г., Сливкин Д. А. и др. Разработка комплексного ноотропного средства на основе пантогама и кислоты янтарной // Вестн. ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2010. № 1. С. 170–177.

*Стаття: надійшла до редакції 09.09.15*

*доопрацьована 08.02.16*

*прийнята до друку 09.03.16*

## NOOTROPIC AND ANTIHYPOXEMIC ACTIVITY OF DI-NA-SALT OF 2-(PYRIDINE-4-ILTIO)SUCCINIC ACID IN EXPERIMENTS *IN VIVO*

**Yu. Petrusha**

*Zaporizhzhya National University  
66, Zhukovskiy St., Zaporizhzhya 69063, Ukraine  
e-mail: Yulia.ZNU@mail.ru*

In the article are presented the study results of nootropic and anti-hypoxemic action of nontoxic substance – di-Na-salt of 2-(pyridine-4-iltio)succinic acid. The results received on a stress-model «open field» and in the simplified version of Morris test (for Lilp) indicate nootropic action, ability to influence on spatial memory and existence of antianxious properties at this substance. In Morris's test experimental animals more effectively avoided to stay in water under the influence of the studied substance. After this index di-Na-salt of 2-(pyridine-4-iltio)succinic acid is at the same level as well known nootropic remedy «Piracetamum», but its action exceeds it. After anti-hypoxemic action on model of a hematic hypoxia di-Na-salt of 2-(pyridine-4-iltio)succinic acid in a dose of 50 mg/kg exceeds «Piracetamum» and authentically increases time of animals survival. After using the substance in a dose of 25 mg/kg mice could survive over the same time as after using the «Piracetamum». Results of researches allow to recommend di-Na-salt of 2-(pyridine-4-iltio)succinic acid as perspective substance for creation of new nontoxic nootropic means on its basis.

*Keywords:* di-Na-salt of 2-(pyridine-4-iltio)succinic acid, nootropic action, anti-hypoxemic activity.

## НООТРОПНАЯ И АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДИНАТРИЕВОЙ СОЛИ 2-(ПИРИДИН-4-ИЛТИО)ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ В ОПЫТАХ *IN VIVO*

**Ю. Петруша**

*Запорожский национальный университет  
ул. Жуковского, 66, Запорожье 69063, Украина  
e-mail: Yulia.ZNU@mail.ru*

В статье представлены результаты изучения ноотропного и антигипоксического действия нетоксичного соединения – динатриевой соли 2-(пиридин-4-илтио)янтарной кислоты. Результаты, полученные на стресс-модели «открытое поле» и в упрощенном варианте теста Морриса (по Лильпу), указывают на ноотропное действие, способность влиять на пространственную память и наличие противотревожных свойств у этого соединения. В тесте Морриса подопытные животные под воздействием исследуемого

вещества более эффективно избегали пребывания в воде. По этому показателю динатриевая соль 2-(пиридин-4-илтио)янтарной кислоты находится на уровне эталона сравнения – известного ноотропного средства «Пирацетам», но по выраженности действия превышает его. По антигипоксическому действию на модели гемической гипоксии динатриевая соль 2-(пиридин-4-илтио)янтарной кислоты в дозе 50 мг/кг превышает «Пирацетам» и достоверно увеличивает время выживаемости животных. При введении исследуемого соединения в дозе 25 мг/кг также наблюдалось достоверное увеличение времени выживаемости мышей почти до уровня «Пирацетам». Результаты исследований позволяют рекомендовать динатриевую соль 2-(пиридин-4-илтио)янтарной кислоты в качестве перспективной субстанции для создания на ее основе новых нетоксичных ноотропных средств.

*Ключевые слова:* динатриевая соль 2-(пиридин-4-илтио)янтарной кислоты, ноотропное действие, антигипоксическая активность.