

С. Ю. Штриголь¹, С. В. Залевський¹, Т. В. Горбач²

Перспективний антиконвульсант 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N- [(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід: вплив на вміст нейроактивних амінокислот і 8-ізопростану в головному мозку мишей за моделювання судом тіосемікарбазидом

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків²Харківський національний медичний університет

Ключові слова: похідні хіназоліну, судомний синдром, нейроактивні амінокислоти, 8-ізопростан

Епілепсія є широко розповсюдженим захворюванням – за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я на неї страждає близько 0,5–1,0 % населення світу [1, 2]. Епілепсія характеризується стійкою схильністю до судомних нападів і пов'язаних з ними когнітивних, психологічних і соціальних наслідків [3]. Складність лікування епілепсії пояснюється не лише необхідністю тривалого (часто довічного) прийому протиепілептичних препаратів (ПЕП), більшість яких має досить тяжкі побічні ефекти, особливо за політерапії [4], а й поліфармакорезистентністю захворювання, яка останнім часом сягає 20–40 % випадків [5, 6]. Відсутність адекватного контролю за нападами погіршує якість життя хворих і збільшує економічні витрати на лікування. Тому залишається актуальним створення нових ПЕП і дослідження механізму їхньої дії.

Перспективним класом сполук для створення нових антиконвульсантів є хіназоліни. У Національному фармацевтичному університеті під керівництвом доктора фармацевтичних наук

Г. І. Северіної синтезовано серію оригінальних похідних хіназоліну, серед яких особливу увагу привертає 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід (рисунок).

З-поміж 20 зазначених нових сполук у 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду на базовій моделі пентилентетразолових судом встановлено високу – на рівні вальпроату натрію (300 мг/кг) – антиконвульсантну активність [7], на моделях судом із різним патогенезом виявлено широкий спектр протисудомних властивостей. Доведено, що 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід має сприятливий спектр супутніх психотропних властивостей. У протисудомній дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково (в/ш) він не впливає на поведінку мишей у тесті відкритого поля,

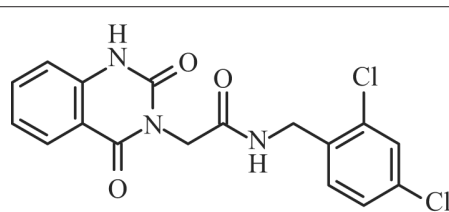


Рисунок. Хімічна структура 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду

© Колектив авторів, 2022

чинить анксиолітичний ефект у тесті хрестоподібного піднесеного лабіринту та антидепресивний ефект в іммобілізаційному тесті підвішування мишей за хвіст [8]. Досліджувана сполука належить до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини (ЛД₅₀ для мишей перевищує 5 г/кг за в/ш введення), що вигідно відрізняє її від вальпроату натрію в протисудомній дозі 300 мг/кг в/ш, який пригнічує рухову активність та емоційні реакції тварин, не впливає на тривожність і виявляє депресогенні властивості [8], а також є токсичнішим – ЛД₅₀ становить 670 мг/кг [9].

Постає закономірне питання про можливі нейрохімічні механізми дії 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду. Зокрема, доцільно визначити вплив цієї сполуки на вміст нейроактивних амінокислот у головному мозку, що може пояснювати як антиконвульсантні, так і психотропні властивості. Крім того, з огляду на роль посиленої ліпопероксидації в патогенезі судомних нападів [10], доцільно визначити вплив 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду на певні маркери церебрального оксидативного стресу. *Мета дослідження* – з'ясувати зміни вмісту гальмівних (гамма-аміномасляна кислота (ГАМК), гліцин) і збуджувальних (глутамат, аспартат) амінокислот, а також 8-ізопростану в головному мозку мишей за умов моделювання судомного синдрому та впливу 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду.

Матеріали та методи. Досліди виконано на 24 дорослих білих рандомбредних мишах самцях масою 20–25 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Експерименти проведено на

базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ. Протокол дослідження відповідає положенням Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних й інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.) та «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» (м. Київ, 2001 р.).

Використано модель тіосемікарбазидних судом. Це зумовлено тим, що, по-перше, зазначена модель має повільний розвиток нападів, який може сприяти виявленню нейрохімічних змін у живих тварин, і, по-друге, у патогенезі судом під впливом тіосемікарбазиду, який пригнічує синтез ГАМК з глутамату, має значення зниження церебрального вмісту основних гальмівних медіаторів ГАМК і гліцину, накопичення збуджувальної амінокислоти глутамату [11]. Тіосемікарбазид (Sigma, США) вводили у вигляді водного розчину в дозі 25 мг/кг внутрішньочеревино (в/о) [12, 13].

Тварин випадковим чином розподілили на 4 групи по 6 особин. Група 1 (контроль) – інтактні миші, яким в/ш крізь зонд вводили воду (0,1 мл/100 г), а через 20–30 хв після цього в/о вводили воду для ін'єкцій в аналогічному об'ємі (ця група фактично служила контролем на маніпуляції, пов'язані з введенням досліджуваної речовини, препарату порівняння та конвульсанта). Мишам групи 2 (контрольна патологія) вводили в/ш воду, а в/о – 0,1 мл/10 г 0,25 % водного розчину тіосемікарбазиду. Тваринам групи 3 вводили в/ш стабілізовану твіном-80 1 % суспензію 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду в об'ємі 0,1 мл/10 г маси тіла (100 мг/кг), а мишам групи 4 – препарат порівняння вальпроат натрію (Депакін, Санофі-Авентіс, Франція – сироп для перорального

застосування 57,64 мг/ 1 мл) у дозі 300 мг/кг. Через 30 хв після цього тварини груп 3 та 4 отримували розчин тіосемікарбазиду як зазначено вище.

Мишей вміщували в індивідуальні прозорі пластикові контейнери об'ємом 5 дм³ і спостерігали за розвитком судом. Через 60 хв після в/о введення розчинника контрольних мишей (група 1) і на висоті першого судомного нападу (клонічного, клоніко-тонічного або тонічного) тварин груп 2, 3 і 4 декапітували. Головний мозок вилучали, заморожували рідким азотом і зберігали до аналізу при температурі -70°C . Наважку замороженого мозку гомогенізували, екстракцію 96 % етанолом (співвідношення спирт-тканина 10:1) проводили протягом 19 хв на киплячій водянній бані. Вміст ГАМК, глутамату та аспартату в гомогенаті головного мозку визначали методом високоевольтного електрофорезу [14]. Амінокислоти розділяли в піридин-оцтовокислому буфері за напруги 600 В протягом 3 год. Вміст гліцину визначали методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol [15], як розчинник використовували суміш н-бутанол – крижана оцтова кислота – вода у співвідношенні 90:10:25. Стандартом була субстанція гліцину (Sigma, США). Для визначення вмісту 8-ізопростану імуноферментним методом використовували стандартний набір (8-isoprostane ELISA Kit, Enzyme immunoassay for the quantitative determination of 8-isoprostane, США).

Результати обробляли статистично за допомогою програми Statistica 12.0 for Windows. Результати наведено як $M \pm m$. Достовірність міжгрупових відмінностей оцінювали за параметричним t-критерієм Стьюдента за умов нормального розподілу, непараметричним U-критерієм Манна-Вітні за його відсутності. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$ [16].

Результати та їх обговорення.

Латентний період судом тривав у групі контрольної патології близько 55–65 хв, у групі 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду – близько 70–80 хв, у групі вальпроату натрію – здебільшого 80–110 хв. Це вказує на помірний протисудомний вплив досліджуваної сполуки та дещо виразніший – препарату порівняння. Швидка декапітація тварин з миттєвим заморожуванням головного мозку рідким азотом дозволила визначити прижиттєвий церебральний вміст досліджуваних речовин.

Результати біохімічних досліджень наведено в таблиці.

Щодо 3 з 4 досліджуваних нейроактивних амінокислот у групі контрольної патології на висоті тіосемікарбазидних судом спостерігались виразні зміни. Вміст ГАМК у головному мозку зменшився в 2,6 разу ($p < 0,001$), а вміст його метаболічного прекурсору глутамату збільшився в 1,8 разу ($p < 0,001$). Рівень іншої гальмівної амінокислоти гліцину знизився в 1,9 разу ($p < 0,001$), а вміст збуджувальної амінокислоти аспартату не зазнав змін.

Під впливом 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду знижений на тлі дії тіосемікарбазиду вміст ГАМК збільшився в 1,8 разу ($p < 0,001$ проти показника групи контрольної патології), хоча й залишився нижче рівня інтактних тварин в 1,4 разу ($p < 0,001$). Вміст глутамату зменшився в 1,3 разу щодо контрольної патології ($p < 0,001$), але перевищив показник інтактного контролю в 1,4 разу ($p < 0,001$). Вміст гліцину значно збільшився (у 2,6 разу проти показника контрольної патології, $p < 0,001$), навіть перевищуючи рівень інтактного контролю ($p < 0,001$).

Вміст нейроактивних амінокислот і 8-ізопростану в головному мозку мишей на піку тіосемікарбазидних судом за впливу 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду ($M \pm m, n = 6$)

Біомаркер	Інтактний контроль	Тіосемікарбазидні судоми		
		контрольна патологія	досліджувана сполука, 100 мг/кг	вальпроат натрію, 300 мг/кг
Гамма-аміно-масляна кислота, мкмоль/г	6,89 ± 0,13	2,70 ± 0,14***	4,94 ± 0,10***, #, ^	8,0 ± 0,11***, #
Глутамат, мкмоль/г	8,65 ± 0,10	15,51 ± 0,17***	12,33 ± 0,16***, #, ^	8,99 ± 0,10*, #
Аспартат, мкмоль/г	4,97 ± 0,10	4,99 ± 0,11	3,84 ± 0,13***, #	4,11 ± 0,07***, #
Гліцин, мкмоль/г	2,08 ± 0,11	1,09 ± 0,07***	2,85 ± 0,12***, #	2,71 ± 0,14**, #
Ізопростан-8, мкмоль/г	25,46 ± 0,63	43,61 ± 0,26***	33,77 ± 0,26***, #, ^	28,01 ± 0,09**, #

Примітка. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ статистично значущі відмінності з інтактним контролем; # $p < 0,001$ – з контрольною патологією; ^ $p < 0,001$ – з групою вальпроату натрію.

Кількість аспартату суттєво знизилась (в 1,3 разу щодо інтактного контролю та контрольної патології, $p < 0,001$).

Вальпроат натрію сприяв накопиченню максимальної кількості ГАМК (у 3,0 разу більше проти показника групи контрольної патології та в 1,2 разу – проти інтактного контролю, $p < 0,001$). Під впливом цього ПЕП вміст глутамату зменшився щодо контрольної патології в 1,7 разу ($p < 0,001$, але в 1,04 разу перевищив показник інтактного контролю ($p < 0,05$). Вміст гліцину зріс у 2,5 разу проти контрольної патології ($p < 0,001$) і в 1,3 разу щодо інтактного контролю ($p < 0,01$), а рівень аспартату знизився в 1,2 разу проти показника інтактного контролю та контрольної патології ($p < 0,001$).

Отже, зміни вмісту церебральних нейротрансмітерних амінокислот під впливом 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду та вальпроату натрію були однотипними. Значно зменшений на тлі тіосемікарбазиду рівень гальмівних амінокислот ГАМК і гліцину

обидва антиконвульсанти з високою статистичною значущістю ($p < 0,01$) збільшували, підвищений вміст збуджувальної амінокислоти глутамату зменшували, а також знижували кількість іншої збуджувальної амінокислоти аспартату, на яку тіосемікарбазид не вплинув. При цьому 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід поступався вальпроату натрію за нормалізувальним впливом у метаболічній парі глутамат-ГАМК. Так, співвідношення ГАМК/глутамат в інтактному контролі становило 0,80, у групі контрольної патології – 0,17, на тлі досліджуваної сполуки – 0,40, під впливом вальпроату натрію – 0,89. На вміст аспартату та гліцину обидва антиконвульсанти впливали практично однаково. Виявлені зміни вмісту зазначених амінокислот певною мірою пояснюють протисудомні властивості 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду та вальпроату натрію, а також можуть брати участь у механізмі анксиолітичної дії нової досліджуваної сполуки.

Зниження підвищеного вмісту глутамату під впливом обох досліджених антиконвульсантів може свідчити на користь зменшення ними глутаматної ексайтотоксичності, що важливо для інтегрального нейропротекторного ефекту.

Ізопростани є нещодавно відкритою групою ізомерів простагландинів. Їх можна використовувати як маркери оксидативного стресу, оскільки при низці захворювань, зокрема, неврологічних, вміст ізопростанів у біологічних зразках значно підвищується [17, 18]. 8-Ізопростан (8-iso-PgF 2α) ізомерний простагландину F 2α , що дозволяє з достатнім ступенем точності, вірогідності та відтворюваності результатів оцінити рівень продукції вільних радикалів, а його вміст прямо пропорційний кількості утворених вільних радикалів [19].

Як видно з таблиці, вміст 8-ізопростану в головному мозку на висоті тіосемікарбазидних судом збільшився в 1,7 разу ($p < 0,001$ щодо інтактного контролю). Підвищення вмісту 8-ізопростану в головному мозку спостерігається також на інших моделях судом, зокрема, індукованих кайнатом [20] і в умовах хронічного епілептогенезу (пентилентетразоловий кіндлінг) [21], що доводить роль оксидативного стресу як складової патогенезу судом різного походження. 2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід зменшив його в 1,3 разу, а вальпроат натрію – в 1,6 разу проти контрольної патології ($p < 0,001$), хоча порівняно з показником інтактних мишей рівень 8-ізопростану залишався збільшеним відповідно в 1,3 разу ($p < 0,001$) і в 1,1 разу ($p < 0,01$).

Таким чином, і досліджувана сполука, і класичний антиконвульсант сприяли зменшенню виразності оксидативного стресу на моделі індукова-

них тіосемікарбазидом судом. Це може вигідно відрізнити 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід і вальпроат натрію від деяких інших ПЕП, зокрема від леветирацетаму, який у хворих на криптогенну парціальну епілепсію посилює оксидативний стрес, значно збільшуючи екскрецію 8-ізопростану з сечею [22].

Підсумовуючи результати, слід підкреслити, що перспективний антиконвульсант 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід на моделі індукованих тіосемікарбазидом судом у мишей чинить сприятливий вплив на баланс гальмівних і збуджувальних амінокислот у головному мозку: помірно збільшує вміст ГАМК і дуже виразно – гліцину, помірно знижує рівень глутамату і аспартату. За нормалізувальним впливом на ГАМК і глутамат досліджувана сполука дещо поступається вальпроату натрію, а на вміст гліцину та аспартату діє не менш ефективно. Крім того, 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід протидіє оксидативному стресу в головному мозку, значно зменшуючи вміст 8-ізопростану. Ці нейрохімічні механізми дії нового похідного хіназоліну обґрунтовують доцільність його подальшого поглибленого дослідження як протисудомного та психотропного засобу.

Висновки

1. Оригінальне похідне хіназоліну – 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід, який є перспективним антиконвульсантом, у дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково на моделі тіосемікарбазидних судом у мишей підвищує знижений рівень гальмівних амінокислот ГАМК і особливо гліцину в головному мозку,

- зменшує вміст збуджувальних амінокислот глутамату та аспартату.
2. 2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідроквіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід на висоті судомного нападу пригнічує оксидативний стрес, зменшуючи церебральний вміст 8-ізопростану.
3. Зазначені властивості зумовлюють перспективність подальшого дослідження 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідроквіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду як протисудомного та психотропного засобу.
1. Bell G. S., Neligan A., Sander J. W. An unknown quantity – The worldwide prevalence of epilepsy. *Epilepsia*. 2014. V. 55, № 7. P. 958–962.
 2. Epilepsy in adults. R. D. Thijs, R. Surges, T. J. O'Brien, J. W. Sander. *Lancet*. 2019. V. 393 (10172). P. 689–701.
 3. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. R. S. Fisher et al. *Epilepsia*. 2014. V. 55, № 4. P. 475–482.
 4. Adverse effects & drug load of antiepileptic drugs in patients with epilepsy: Monotherapy versus polytherapy. R. Joshi, M. Tripathi, P. Gupta et al. *Indian J. Med. Res.* 2017. V. 145, № 3. P. 317–326. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_710_15.
 5. Pharmacoresistant epilepsy and nanotechnology. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. T. Vos et al. *The Lancet*. 2016. V. 388 (10053). P. 1545–1602.
 6. Weaver D. F., Pohlmann-Eden B. Pharmacoresistant epilepsy: unmet needs in solving the puzzle(s). *Epilepsia*. 2013. V. 54. Suppl 2. P. 80–85.
 7. Synthesis, *in vivo* and *in silico* anticonvulsant activity studies of new derivatives of 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)acetamide. W. M. El Kayal, S. Yu. Shtrygol', S. V. Zalevskiy et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. V. 180, № 15. P. 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.085>.
 8. Залевський С. В., Штриголь С. Ю., Штриголь Д. В. Психотропні властивості та гостра токсичність 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідроквіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду – перспективного антиконвульсанта. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т. 15, № 6. С. 363–371.
 9. Електронний ресурс. URL: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3279/V-341-SDS_\(MSDS\).pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3279/V-341-SDS_(MSDS).pdf).
 10. Role of oxidative stress in epileptic seizures. E.-J. Shin, J. H. Jeong, Y. H. Chung et al. *Neurochem. Int.* 2011. V. 59, Issue 2. P. 122–137. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.03.025>.
 11. The effect of propofol on development of thiosemicarbazide-induced GABA-deficient seizures in mice. M. Ya. Golovenko et al. *Clinical pharmacology*. 2017. P. 34–40. <http://dx.doi.org/10.24959/cphj.17.1419>.
 12. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів: методичні рекомендації; під ред. акад. М. Я. Головенка, проф. Л. О. Громова. Київ : ДФЦ МОЗ України, 2003. 46 с.
 13. Hock F. J. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays; Ed. F. J. Hock. Springer International Publishing, 2016. 4314 p.
 14. Зайцева Т. Н., Тюленева І. М. Метод хроматографічного розділення амінокислот. *Лабораторна справа*. 1958. Т. 3. С. 24–30.
 15. Матеранская Н. П. Определение белка в гомогенатах тканей : практикум по биол. химии. Москва : Высш. шк., 1970. 296 с.
 16. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва : Практика. 1998. 459 с.
 17. Czerska M., Zieliński M., Gromadzińska J. Isoprostanols – a novel major group of oxidative stress markers. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2016. V. 29, № 2. P. 179–190. <https://doi.org/10.13075/ijomeh.1896.00596>.
 18. Isoprostanols and neuroprostanols as biomarkers of oxidative stress in neurodegenerative diseases. E. Miller, A. Morel, L. Saso, J. Saluk. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014. V. 572491. <https://doi.org/10.1155/2014/572491>.
 19. Нерасымчук Н. М. 8-ізопростанол як основний маркер оксидативного стресу. *Запорозький медичинський журнал*. 2018. Т. 20, № 6 (111). С. 853–859. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.6.146780>.
 20. Patel M., Liang L. P., Roberts L. J. Enhanced hippocampal F2-isoprostanol formation following kainate-induced seizures. *Journal of Neurochemistry*. 2001. V. 79. P. 1065–1069.
 21. Міщенко М. В., Штриголь С. Ю., Горбач Т. В. Вплив потенційного антиконвульсанта 5-[(z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону на вміст 8-ізопростану, нейрон-специфічної ендолази та активність Na⁺, K⁺-АТФази у головному мозку мишей на моделі пентилентетразолового кіндлінгу. Актуальні питання науки, освіти і суспільства в Україні та світі: збірник тез доповідей міжнародної науково-практичної конференції (Полтава, 30 березня 2022 р.). Полтава : ЦФЕНД, 2022. С. 63–65.

С. Ю. Штриголь, С. В. Залевський, Т. В. Горбач
Перспективний антиконвульсант 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід: вплив на вміст нейроактивних амінокислот та 8-ізопростану в головному мозку мишей за моделювання судом тиосемікарбазидом

Мета дослідження – з'ясувати зміни вмісту гальмівних (гамма-аміномасляна кислота (ГАМК), гліцин) і збуджувальних (глутамат, аспартат) амінокислот, а також 8-ізопростану в головному мозку мишей за умов моделювання судомного синдрому та впливу оригінального похідного хіназоліну 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду. У попередніх дослідженнях ця сполука виявила протисудомні, анксиолітичні та антидепресивні властивості.

Експеримент виконано на 24 білих нелінійних мишах на моделі судом, які індуковано тиосемікарбазидом. Досліджувану сполуку в дозі 100 мг/кг і референс-препарат вальпроат натрію в дозі 300 мг/кг вводили внутрішньошлунково за 30 хв до введення тиосемікарбазиду (25 мг/кг внутрішньоочеревинно). На висоті першого нападу клонічних, клоніко-тонічних або тонічних судом тварин декапітували, негайно вилучали головний мозок і заморожували його рідким азотом. У гомогенаті головного мозку визначали вміст ГАМК, аспартату та глутамату методом високовольтного електрофорезу, вміст гліцину методом тонкошарової хроматографії на пластинах Silufol, вміст 8-ізопростану імуноферментним методом.

Тиосемікарбазид спричинив закономірне значне зменшення вмісту ГАМК на тлі зростання глутамату, зниження вмісту гліцину при незмінному рівні аспартату. 2-(2,4-Діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід сприятливо вплинув на баланс гальмівних і збуджувальних амінокислот у головному мозку: помірно збільшив вміст ГАМК і дуже виразно – гліцину, помірно знизив рівень глутамату й аспартату. За нормалізувальним впливом на ГАМК і глутамат досліджувана сполука дещо поступалась вальпроату натрію, а на вміст гліцину та аспартату діяла не менш ефективно. Крім того, 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід протидіяв оксидативному стресу в головному мозку, значно зменшуючи збільшений під впливом тиосемікарбазиду вміст 8-ізопростану. За антиоксидантними властивостями досліджувана сполука дещо поступалась препарату порівняння вальпроату натрію.

Отже, оригінальне похідне хіназоліну 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід у дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково на висоті нападу індукованих тиосемікарбазидом судом у мишей підвищує знижений рівень гальмівних і зменшує вміст збуджувальних амінокислот у головному мозку. Досліджувана сполука пригнічує оксидативний стрес, виходячи зі зменшення церебрального вмісту 8-ізопростану. Ці властивості пояснюють механізм протисудомної дії та зумовлюють перспективність подальшого дослідження 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду як протисудомного та психотропного засобу.

Ключові слова: похідні хіназоліну, судомний синдром, нейроактивні амінокислоти, 8-ізопростан

С. Ю. Штриголь, С. В. Залевський, Т. В. Горбач
Перспективний антиконвульсант 2-(2,4-діоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід: влияние на содержание нейроактивных аминокислот и изопростана-8 в головном мозге мышей при моделировании судорог тиосемікарбазидом

Цель исследования – выяснить изменения содержания тормозных (ГАМК, глицин) и возбуждающих (глутамат, аспартат) аминокислот, а также 8-изопростана в головном мозге мышей при моделировании судорожного синдрома и влияния оригинального производного хиназолина 2-(2,4-диоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміда. Это вещество в предыдущих исследованиях проявило противосудорожные, анксиолитические и антидепрессивные свойства.

Експеримент виконано на 24 білих нелінійних мишах на моделі судом, індуцированих тиосемікарбазидом. Тестируемое соединение в дозе 100 мг/кг и референс-препарат вальпроат натрия в дозе 300 мг/кг вводили внутривенно за 30 мин до введения тиосемікарбазіда (25 мг/кг внутривенно). На высоте первого приступа клонических, клонико-тонических или тонических судорог животных декапитировали, немедленно извлекали головной мозг и замораживали его жидким азотом. В гомогенате головного мозга определяли содержание ГАМК, аспартата и глутамата методом высоковольтного электрофореза, содержание глицина методом тонкошаровой хроматографии на пластинах Silufol, содержание 8-изопростана иммуноферментным методом.

Тиосемікарбазид привел к значительному уменьшению содержания ГАМК на фоне роста глутамата, снижению содержания глицина при неизменном уровне аспартата. 2-(2,4-Диоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід оказал благоприятное влияние на баланс тормозных и возбуждающих аминокислот в головном мозге: умеренно увеличил содержание ГАМК и очень выражено – глицина, умеренно снизил уровень глутамата и аспартата. По нормализующему влиянию на ГАМК и глутамат исследуемое соединение несколько уступало

вальпроату натрия, а на содержание глицина и аспартата действовало не менее эффективно. Кроме того, 2-(2,4-диоксо-1,4-дигидрохиназолин-3(2H)-ил)-N-[(2,4-дихлорофенил)метил]-ацетамид противодействовал оксидативному стрессу в головном мозге, значительно уменьшая увеличенное под влиянием тиосемикарбазида содержание 8-изопростана. По антиоксидантным свойствам исследуемое соединение несколько уступало препарату сравнения вальпроату натрия.

Следовательно, оригинальное производное хиनाзолина 2-(2,4-диоксо-1,4-дигидрохиназолин-3(2H)-ил)-N-[(2,4-дихлорофенил)метил]-ацетамид в дозе 100 мг/кг внутривенно на высоте приступа индуцированных тиосемикарбазидом судорог у мышей повышает сниженный уровень тормозных и уменьшает содержание возбуждающих аминокислот в головном мозге. Тестируемое соединение ингибирует оксидативный стресс, судя по уменьшению церебрального содержания 8-изопростана. Эти свойства объясняют механизм противосудорожного действия и обуславливают перспективность дальнейшего исследования 2-(2,4-диоксо-1,4-дигидрохиназолин-3(2H)-ил)-N-[(2,4-дихлорофенил)метил]-ацетамида как противосудорожного и психотропного средства.

Ключевые слова: производные хиназолина, судорожный синдром, нейроактивные аминокислоты, 8-изопростан

S. Yu. Shtrygol', S. V. Zalevskiy, T. V. Gorbach
Promising anticonvulsant 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-acetamide: the influence on the content of neuroactive amino acids and 8-isoprostane in the mouse brain under the model of thiosemicarbazide-induced seizures

The aim of the study is to find out changes in the content of inhibitory (GABA, glycine) and excitatory (glutamate, aspartate) amino acids, as well as 8-isoprostane in the mouse brain under the model of convulsive syndrome and the influence of the original quinazoline derivative 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]acetamide, which anticonvulsant, anxiolytic, and antidepressant properties has been shown in previous studies.

The experiments were performed on 24 non-linear albino mice under the model of thiosemicarbazide-induced seizures. The test compound at a dose of 100 mg/kg and the reference drug sodium valproate at a dose of 300 mg/kg were administered intragastrically 30 min before thiosemicarbazide (25 mg/kg intraperitoneally). On the peak of the first attack of clonic, clonic-tonic, or tonic seizures, the animals were decapitated, the brain was immediately removed and frozen with liquid nitrogen. In the brain homogenate, the content of GABA, aspartate, and glutamate was determined by high-voltage electrophoresis, the content of glycine was determined by thin-layer chromatography on Silufol plates, and the content of 8-isoprostane by enzyme immunoassay.

Thiosemicarbazide led to a significant decrease in the cerebral GABA content against the background of an elevated glutamate level, a decrease in the content of glycine with an unchanged level of aspartate. 2-(2,4-Dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-acetamide provided a beneficial effect on the balance of inhibitory and excitatory amino acids in the brain, increasing the content of GABA (moderately) and glycine (very significantly), moderately reducing the level of glutamate and aspartate. According to the ability to normalize GABA and glutamate level, the studied compound was somewhat inferior to sodium valproate, while it influenced no less effectively on the content of glycine and aspartate. In addition, 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-acetamide counteracted oxidative stress in the brain, significantly reducing the content of 8-isoprostane, which was increased under the influence of thiosemicarbazide. In terms of antioxidant properties, the test compound was somewhat inferior to the reference drug sodium valproate.

Therefore, the original quinazoline derivative 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-acetamide at a dose of 100 mg/kg intragastrically increases the reduced level of inhibitory amino acids and decreases the content of excitatory amino acids in the mouse brain on the peak of thiosemicarbazide-induced seizures. The test compound inhibits oxidative stress judging by reducing the cerebral content of 8-isoprostane. These properties explain the mechanism of anticonvulsant action and substantiate the further studies of 2-(2,4-dioxo-1,4-dihydroquinazolin-3(2H)-yl)-N-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-acetamide as an anticonvulsant and a psychotropic drug.

Key words: quinazoline derivatives, convulsive syndrome, neuroactive amino acids, 8-isoprostane

Надійшла: 1 лютого 2022 р.

Прийнята до друку: 16 лютого 2022 р.

Контактна особа: Штриголь Сергій Юрійович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології та фармакотерапії, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Куликівська, м. Харків, 61003. Електронна пошта: shtrygol@ukr.net