латентний період судом, кількість нападів на одну тварину, % мишей із судомами (клонічними й тонічними), тяжкість судом (від 1 до 6, у разі відсутності судом – 0 балів) час судомного періоду, час настання смерті, смертність у групах.

Для дослідження використовували 4 групи по 6 тварин, які отримували PTZ через 30 хвилин після інтраназального введення відповідно ізотонічного розчину NaCl, NP9 0,2 мг/кг, гептапептиду 0,1 мг/кг та антиконвульсанта вальпроату натрію 300 мг/кг внутрішньошлунково. Для вивчення взаємодії з TSC тварин рандомізували аналогічно.

Тема НДР. «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956; термін виконання НДР 2014–2023 рр.).

Результати. Нонапептид NP9 не виявив помітного впливу на перебіг PTZ- і ТСК-індукованих судом.

Висновки. Пептид NP9 не продемонстрував суттєвої, а тим паче небезпечної взаємодії ані з пентилентетразолом, ані з тіосемікрабазидом. Це дозволяє вважати його безпечним щодо судом як побічного ефекту, оскільки він не має проконвульсантного потенціалу.

2-(2,4-ДИОКСО-1,4-ДИГІДРОХІНАЗОЛІН-3(2Н)-ІЛ)-N-[(2,4-ДИХЛОРОФЕНІЛ)МЕТИЛ]-АЦЕТАМІД – ПЕРСПЕКТИВНИЙ АНТИКОНВУЛЬСАНТ: ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Залевський С.В., Штриголь С.Ю., Северіна Г.І., Георгіянц В.А.
Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Вступ. Сучасний стан допомоги пацієнтам з епілепсією залишає місце для пошуку нових ефективних та безпечних протиепілептичних препаратів (ПЕП) з широким спектром протисудомної активності, оскільки наявні засоби мають численні побічні ефекти, не завжди дозволяють контролювати перебіг захворювання, а частка поліфармакорезистентних випадків сягає 30%. Одним із перспективних в цьому аспекті рядів хімічних сполук слід вважати хіназоліни. У Національному фармацевтичному університеті синтезовано низку оригінальних сполук цього ряду.

Мета дослідження. Провести скринінг нових хіназолонів на протисудомну активність, виявити з-поміж них перспективні для подальшого дослідження

лідери, оцінити спектр їхньої антиконвульсантної дії, вторинну фармакодинаміку з боку ЦНС, можливі механізми дії, гостру токсичність.

Методи дослідження. Фармакологічні (базові та додаткові моделі первинно-генералізованих судом у мишей, стандартні психофармакологічні тести), біохімічні, хроматографічні, імуноферментні (дослідження вмісту нейроактивних амінокислот, 8-ізопростану), токсикологічні (визначення гострої токсичності), дослідження *in silico* (молекулярний докінг щодо протисудомних біологічних мішеней), статистичні.

Тема НДР. «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956; термін виконання НДР 2014–2023 рр.).

Результати. За результатами скринінгу на базовій моделі пентилентетразолових судом із 20 похідних хіназоліну (10 таких, що містять у структурі кисень, і 10 містять Сульфур) знайдено одну сполуку (2-(2,4-диоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід, далі – сполука I), структура якого наведена на рис.1.

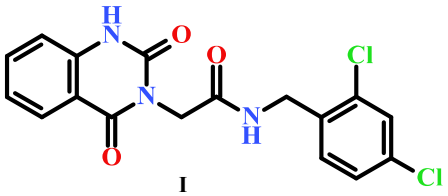

Рисунок 1. Хімічна структура 2-(2,4-диоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду (сполуки I)

Ця сполука в дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково виявляє високий антиконвульсантний ефект на рівні еталонного антиконвульсанта вальпроату натрію в дозі 300 мг/кг. Ще 3 сполуки мають досить виразні протисудомні властивості, 5 сполук – помірні, 7 сполук були нейтральними щодо судом, а 4 мали проконвульсантні властивості Протисудомні властивості притаманні переважно похідним хіназоліну, що містять кисень: всі 4 високоефективні сполуки (у т.ч. абсолютний лідер) належать до цієї групи сполук, 3 сполуки з помірним ефектом, 2 виявились нейтральними та 1 – проконвульсантом. Проте з-поміж похідних, що містять Сульфур, лише 2 сполуки мають помірні протисудомні властивості, 5 – індиферентні, 3 – проконвульсанти.

При вивченні дозозалежності дії сполуки I достовірний антиконвульсантний ефект спричинила вже найменша випробувана доза 50 мг/кг: тенденційно збільшився латентний період судом, летальність достовірно знизилась на 33% ($p<0,05$). Збільшення дози до 100 мг/кг суттєво посилило захисний ефект: латентний період нападів зріс більш ніж у 2 рази ($p<0,05$), їхня

тяжкість знизилась майже на 2 бали ($p<0,01$) за рахунок редукції тонічних судом ($p<0,05$), а летальність скоротилась на 83% ($p<0,01$). Збільшення дози до 150 мг/кг ще більше знизило тяжкість і кількість нападів, але значущих відмінностей з перебігом судом і летальністю на тлі дози 100 мг/кг не було. Для подальших досліджень обрано дозу 100 мг/кг як умовно ефективну.

Сполука I виявила широкий спектр антиконвульсантної дії, достовірно зменшуючи летальність мишей на моделях пентилентетразолових, пікротоксинових, стрихнінових, кофеїнових судом. На моделі тіосемікарбазид-індукованих судом вона не зменшила летальність, на моделі максимального електрошоку виявила тенденційний ефект, достовірно зменшуючи тривалість судомного періоду та недостовірно – летальність. Ці результати вказують на участь у механізм протисудомної дії ГАМК-ергічних (ефективнісь на моделях пентилентетразолових і пікротоксин-індукованих судом), гліцинергічних (ефективність на стрихніновій моделі пароксизмів) та аденозинергічних (ефективність на моделі кофеїн-індукованих нападів) механізмів.

Нейрохімічні дослідження підтвердили ці результати. Вміст нейроактивних амінокислот визначали в головному мозку мишей на висоті першого судомного нападу, що його викликано тіосемікарбазидом. Конвульсант значно зменшив церебральний вміст ГАМК на тлі зростання глутамату, знизив уміст гліцину при незмінному рівні аспартату. Сполука I сприятливо вплинула на баланс гальмівних і збуджувальних амінокислот: помірно збільшила вміст ГАМК і дуже виразно – гліцину, помірно знизила рівень глутамату й дуже значно – аспартату. За нормалізувальним впливом на ГАМК і глутамат досліджувана сполука дещо поступалась вальпроату натрію, а на вміст гліцину та аспартату діяла не менш ефективно.

Здійснено молекулярний докінг сполуки I до протисудомних біомішеней у відповідності до механізмів хемоіндукованих судомних нападів, а саме $ГАМК_A$, гліцинові та аденозинові рецептори типу A_2A, ферменти $ГАМК_{AT}$ та BCAT (табл.1). Виявлено кореляцію результатів *in vivo* та *in silico* досліджень, які свідчать про політропний механізм протисудомної дії досліджуваної сполуки. Реалізація протисудомного ефекту через інгібування BCAT є малоймовірною, що корелює з результатами *in vivo* експерименту на моделі тіосемікарбазид-індукованих судомах.

Таблиця 1

Результати докінгу N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-2-(2,4-диоксо-1*H*-хіназолін-3-іл)ацетаміду та референс-лігандів в активні сайти протисудомних біологічних мішеней

Мішень	Енергія зв'язування, ккал/моль	Гідрофобна взаємодія	Водневі зв'язки	Інші	Референс ліганд, ккал/моль
ГАМКергічні біомішені					

ГАМК$_A$ сайт ПАМ	-8,7	TYR62, PHE200(2), ALA201(2)*, LYS173*	THR176, THR202, ASN41*	–	-8,5 бензамідин
ГАМК$_A$ сайт БЗД	-10,6	PHE77 (3), PHE100, HIS102	TYR58,HIS102 (2), AGN60, SER205	–	-9,9 діазепам
ГАМК$_{AT}$	-10,1	VAL300,TYR348(2)*, PHE189(2), PHE351(2)	ARG192, THR353, ASN352	LYS329, GLU270	-8,4 вігабатрин
Аденозинергічна ланка гальмування					
A_2A	-9,2	LEU249, PHE168 (2), TYR271, LEU267*, MET270, LEU167, ILE274	TYR271	–	-8,5 ZM241385
Гліцинергічна ланка гальмування					
GlyR	-10,8	TYR161(3), PHE32, PRO87, TYR161, PRO10(2), LEU14, LEU83(2)	ASP165*	ARG27 Halogen	-11,4 AM-3607
Антиглутаматний механізм					
hBCATc	-7,4	Val175, Tyr90, Phe95, Tyr227	Arg119,Tyr193, Ala334,Thr333, Thr260, Ser331	Lys 222 (Pi-Cation)	-7,6 габапентин

*амінокислотні залишки, що не є експериментально визначеним активним сайтом

Крім того, сполука I протидіяла оксидативному стресу в головному мозку, значно зменшуючи збільшений під впливом тіосемікарбазиду вміст 8-ізопростану. За антиоксидантними властивостями досліджувана сполука дещо поступалася препарату порівняння вальпроату натрію.

При дослідженні вторинної фармакодинаміки оцінили вплив сполуки I на поведінку мишей в тесті відкритого поля. Сполука I не вплинула на рухову, орієнтовно-дослідницьку та емоційну активність на відміну від вальпроату натрію, що мав депримувальну дію. Також сполука I викликала анксіолітичний ефект у тесті «Хрестоподібний піднесений лабіринт» (вальпроат натрію суттєво не впливав на тривожність), виявила антидепресивну дію (вальпроат натрію – депресогенний вплив) і в ротарод-тесті не порушувала тонус м’язів і координацію рухів, які погіршувались під впливом вальпроату натрію.

При визначення гострої токсичності сполука I у дозі 5 г/кг внутрішньошлунково не викликала загибелі тварин, що дає підставу віднести її до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

Висновок. Оригінальне похідне хіназоліну 2-(2,4-диоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетамід має широкий спектр протисудомної дії, у механізмах якої можуть брати участь ГАМК-, гліцин-

та аденозинергічними властивості. Нейрохімічнми методами доведено збільшення церебрального вмісту ГАМК і гліцину, зниження аспартату й глутамату. Інструментами молекулярного докінгу визначено афінність досліджуваної речовини до протисудомних біомішеней, передбачено механізм протисудомної дії та визначено кореляцію *in vivo* та *in silico* результатів: антагонізм із пентилентетразолом і пікротоксином – стимулювання ГАМК-ергічних механізмів за рахунок позитивної алостеричної модуляції бенздіазепінового сайту $ГАМК_A$ рецептора; антагонізм з кофеїном – модуляція аденозинергічної ланки через конкурентне інгібування A_2A рецепторів; активність на стрихнін-індукованих судомах – гліцинергічний механізм через стимуляцію Gly-рецепторів. Протисудомна дія виявляється в досить широкому діапазоні доз. Досліджувана сполука пригнічує церебральний оксидативний стрес, що також важливо для механізму антиконвульсантого ефекту. Доведено сприятливий профіль центральних ефектів 2-(2,4-диоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл)метил]-ацетаміду (відсутність негативного впливу на поведінку тварин в умовах стрес-реакції у тесті відкритого поля, наявність анксіолітичних та антидепресивних властивостей, а також відсутність порушень м'язового тонусу та координації рухів). Сполука належить до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини. Ці результати обґрунтовують перспективність подальших досліджень 2-(2,4-диоксо-1,4-дигідрохіназолін-3(2H)-іл)-N-[(2,4-дихлорофеніл) метил]-ацетаміду як потенційного антиконвульсанта.

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИКОНВУЛЬСИВНОЇ ДІЇ АНТРАХІНОНГІДРАЗОНОВИХ КОН'ЮГАТІВ НА ОСНОВІ ТІОБАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТИ

Хаблак Я.В. [1]***, Штриголь С.Ю.*** [1]***, Лозинський А.В.*** [2]***, Лесик Р.Б.*** [2]
[1]Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна
[2]Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

Вступ. Епілепсія залишається одним із найпоширеніших хронічних захворювань центральної нервової системи. Наявні протиепілептичні препарати (ПЕП) не забезпечують повний контроль нападів приблизно в третини хворих і мають численні побічні ефекти, що спонукає розробляти нові ПЕП.

У Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького синтезовано оригінальні сполуки нового класу – антрахінонгідразонові кон'югати на основі тіобарбітурової кислоти, що мають лабораторні шифри Les-6444 і Les-6525. Ці сполуки є структурними ізомерами.