УДК 615.213:547:547.789.1:001.891.5:547.1-32-304.2 https://doi.org/10.33250/16.01.010

М. В. Міщенко[1], С. Ю. Штриголь[1], Т. В. Горбач[2]

Вплив потенційного антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону на вміст нейротрансмітерних амінокислот у головному мозку мишей на моделі пентилентетразолового кіндлінгу

[1]Національний фармацевтичний університет, м. Харків
[2]Харківський національний медичний університет

Ключові слова: епілепсія, протиепілептичні препарати, похідні тіазолідинону, амінокислоти, пентилентетразоловий кіндлінг

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я поширеність епілепсії в сучасному світі є значною, захворюваність населення становить близько 0,5–1 % [1]. У 20–40 % випадках [2–3] не вдається досягти контролю за нападами стандартними способами лікування, що значно погіршує якість життя пацієнтів, підвищує економічні витрати, ставить перед лікарем складне завдання щодо вибору оптимального лікування для зниження частоти нападів. Це пояснює актуальність створення нових антиконвульсантних препаратів і комплексне вивчення їхнього механізму дії.

У попередніх дослідженнях на гострих моделях пароксизмів з різним механізмом розвитку судом нами вивчено спектр протисудомної активності перспективного антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону (лабораторний шифр Les-6222), який синтезовано у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького під керівництвом професора Р. Б. Лесика, а також виявлено сприятливий профіль його супутніх психотропних властивостей [4–5]. Хімічну структуру зазначеної сполуки наведено на рисунку 1.

Велике значення на стадії доклінічних досліджень мають кіндлінгові моделі епілепсії, коли подразливий фактор у підпороговій дозі багаторазово впливає на моторні нейрони тварин, після чого головний мозок здатний генерувати епілептичні розряди без стимуляції. У результаті через певний час судомні напади з'являються без впливу провокуючого чинника. Такі моделі хронічного епілептогенезу в тварин наближаються до клінічної патології людини [6].

Оскільки у виникненні судом важливу роль відіграє дисбаланс збуджувальних (глутамат, аспартат) і гальмівних (гамма-аміномасляна кислота

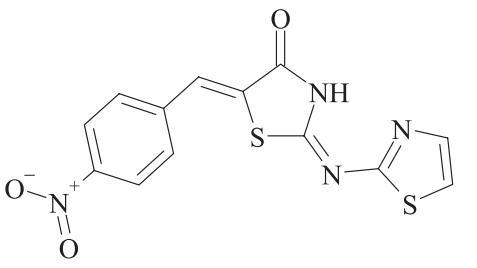

Рис. 1. Хімічна будова 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону (сполука Les-6222)

© Колектив авторів, 2022

(ГАМК), гліцин) амінокислот, актуальним є питання вивчення впливу сполуки Les-6222 на рівень цих нейротрансмітерів у головному мозку. Для поглиблення розуміння нейрохімічного механізму 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону доцільним було дослідити його на моделі хронічного епілептогенезу.

Мета дослідження – з'ясувати ефективність потенційного антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону на моделі пентилентетразолового кіндлінгу в мишей і визначити його вплив на вміст нейротрансмітерних амінокислот (ГАМК, гліцин, глутамат, аспартат) за цих умов.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на 33 білих нелінійних статевозрілих мишах обох статей масою 20–24 г. Тварин утримували за стандартних умов у віварії Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Роботу виконано на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ. Протокол дослідження відповідає Європейській 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.), затверджений Комітетом з питань біоетики НФаУ (протокол від 20.03.2019 № 3).

Тварин випадковим чином розподілили на 5 груп: інтактний контроль; контрольна патологія (КП) – кіндлінг без лікування; миші, яким на тлі кіндлінгу вводили відповідно сполуку Les-6222, вальпроат натрію та целекоксиб, який здатен виявляти антиконвульсантні властивості на гострих моделях судом [7]. Тварин утримували за стандартних умов у віварії Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ.

Кіндлінг моделювали шляхом застосування пентилентетразолу (PTZ) у дозі 30 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о) [8] протягом 16 діб. Конвульсант вводили щодня в однаковий час 1 раз на добу, після чого безперервно спостерігали за кожною твариною протягом 30 хв. Антиконвульсантну активність оцінювали щоденно за наступними показниками: доба появи перших конвульсій, відсоток мишей з судомами у кожній групі, кількість днів без нападів і тяжкість судом [8]. Препарати вводили за 30 хв до конвульсанта. Сполуку Les-6222 вводили тваринам в ефективній протисудомній дозі 100 мг/кг [4] внутрішньошлунково (в/ш) у вигляді стабілізованої твіном-80 суспензії в об'ємі 0,1 мл на 100 г маси тіла. Як препарати порівняння використано класичний антиконвульсант вальпроат натрію (Депакін, Санофі-Авентіс, Франція – сироп для перорального застосування 57,64 мг/1 мл) у дозі 300 мг/кг в/ш і целекоксиб (Целебрекс, Pfizer, США – капсули 100 мг) як протизапальний засіб у дозі 4 мг/кг в/ш у вигляді стабілізованої Твіном-80 суспензії. Дози вальпроату натрію та целекоксибу обрано на підставі даних літератури, у тому числі власних досліджень [4, 7]. Тварини груп інтактного контролю та контрольної патології отримували в/ш воду очищену в аналогічному об'ємі (0,1 мл на 10 г маси тварини).

Біохімічними методами досліджували головний мозок мишей після PTZ-індукованого кіндлінгу. На 16 день експерименту через 1 год після введення препаратів і досліджуваних речовин виконували евтаназію тварин шляхом дислокації шийних хребців [9]. Негайно вилучали головний мозок, який заморожували рідким

азотом, зберігали в морозильній камері при –70 °С і гомогенізували безпосередньо перед дослідженням проби. У гомогенаті головного мозку визначали вміст збуджувальних (глутамат, аспартат) і гальмівних (ГАМК, гліцин) амінокислот. Вміст ГАМК, аспарагінової та глутамінової кислот визначали методом високовольтного електрофорезу [10]. Розділення проводили в піридин-оцтовокислому буфері при напрузі 600 В 3 год. Наважку замороженої проби розтирали в порошок. Екстракцію проводили в 96 % етиловому спирті на киплячій водяній бані протягом 19 хв, співвідношення спирт-тканина 10:1. Вміст гліцину визначали методом тонкошарової хроматографії на пластинах Silufol [11] з використанням системи розчинників н-бутанол – крижана оцтова кислота – вода у співвідношенні 90:10:25. Використовували стандартний зразок гліцину («Sigma», США).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica 12.0 for Windows. Результати наведено у вигляді (M ± m). Достовірність міжгрупових відмінностей оцінювали за параметричним t-критерієм Стьюдента за умов нормального розподілу, непараметричним U-критерієм Манна-Вітні за його відсутності. Результати, що реєструються в альтернативній формі, оцінювали з використанням кутового перетворення Фішера (φ). Для виявлення зв'язку між окремими показниками використано коефіцієнт рангової кореляції Спірмена. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$ [12].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження перебігу PTZ-індукованого кіндлінгу наведено на рисунку 2.

На 4 день експерименту підпорогові дози PTZ призвели до поступового наростання судомної активності: у групі контрольної патології, сполуки Les-6222 і целекоксибу спостерігали появу клонічних судом. У групі вальпроату натрію перші пароксизми реєстрували на 6 день введення конвульсанта. За латентним періодом перших судом статистично достовірної різниці між досліджуваними групами та групою КП не виявлено.

Сполука Les-6222 виявила протисудомну активність, аналіз динаміки якої свідчить про статистично достовірну різницю кількості тварин з судомами з 8 по 16 день експерименту.

У дні 8, 9 і з 11 по 13 у тварин групи Les-6222 судом взагалі не було, що достовірно перевершує показники групи контрольної патології. В останній день експерименту (на 16 добу введення конвульсанта) у групі контрольної патології 77,78 % тварин мали тяжкі напади судом, у той час як у групі Les-6222 лише в 33,33 % мишей мали місце пароксизми, що статистично значуще підтверджує ефективність досліджуваної сполуки ($p < 0,01$). Підсумовуючи динаміку розвитку судомного синдрому в досліджуваних групах (рис. 2), варто зазначити, що лише в групах сполуки Les-6222 і вальпроату натрію спостерігали достовірне зниження ($p < 0,05$) кількості днів без судом у тварин.

На рисунку 3 наведено середнє значення кількості тварин з судомами в окремих групах протягом усього періоду експерименту. За цим показником целекоксиб не виявив захисного антиконвульсантного ефекту (не було відмінностей від групи КП), у той час як вальпроат натрію на 20,75 % знижував кількість мишей з судомами, що статистично значуще перевищує показники груп КП ($p < 0,05$) і целекоксибу ($p < 0,01$). У групі сполуки Les-6222 кількість тварин з пароксизмами протягом експерименту була на

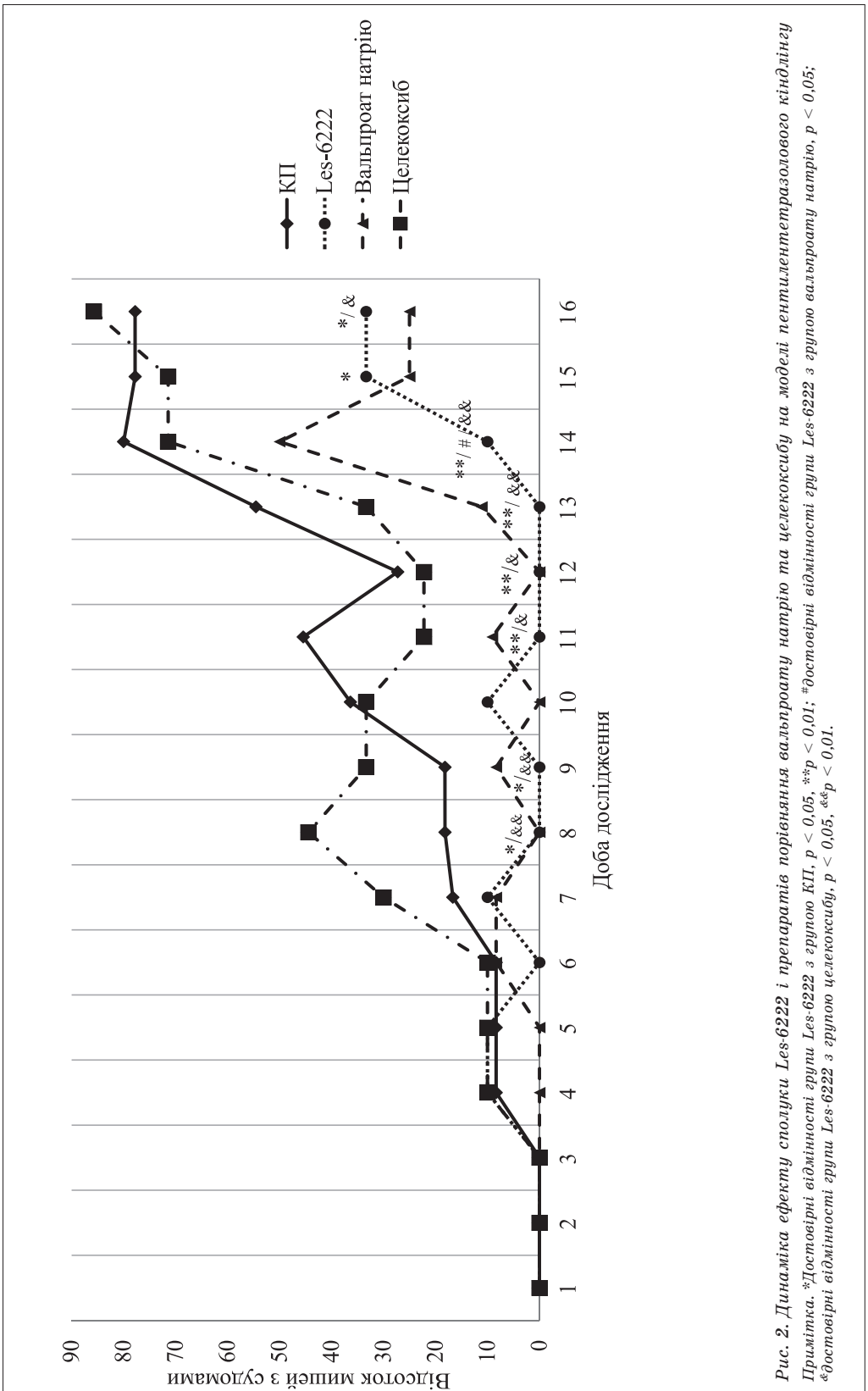

Рис. 2. Динаміка ефекту сполуки Les-6222 і препаратів порівняння вальпроату натрію та целекоксибу на моделі пентилентетразолового кіндлінгу

*Примітка. *Достовірні відмінності групи Les-6222 з групою КП, $p < 0,05$, **$p < 0,01$; #достовірні відмінності групи Les-6222 з групою вальпроату натрію, $p < 0,05$; &достовірні відмінності групи Les-6222 з групою целекоксибу, $p < 0,05$, &&$p < 0,01$.*

22,54 % достовірно менша, ніж у групі КП ($p < 0,05$), і на 22,55 % менша показника групи целекоксибу ($p < 0,01$). Достовірної різниці між групами сполуки Les-6222 і препарату порівняння вальпроату натрію не виявлено.

Таким чином, на моделі PTZ-індукованого кіндлінгу, яка відтворює умови хронічного епілептогенезу, виявлено високу антиконвульсантну активність 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону щодо запобігання розвитку вторинно-генералізованих судом.

Наступним етапом було визначення рівня нейротрансмітерних амінокислот у головному мозку мишей на моделі PTZ-кіндлінгу. Результати наведено в таблиці. Після 16-денного введення конвульсанта в групі КП спостерігали типову зміну кількості гальмівних і збуджувальних амінокислот. Вміст ГАМК статистично значуще знизився в 2,12 разу ($p < 0,01$), концентрація гліцину – у 1,55 разу ($p < 0,01$) щодо інтактного контролю. Вміст збуджувальних амінокислот глутамату та аспартату, навпаки, статистично значуще збільшився в 2,19 і 1,51 разу відповідно ($p < 0,01$) проти показників інтактних тварин.

Вальпроат натрію достовірно протидіяв впливу тривалого введення PTZ на вміст усіх досліджених амінокислот, проте їхній рівень не сягав інтактного контролю. Вміст ГАМК зріс у 1,73 разу ($p < 0,01$) проти показника КП, рівень гліцину збільшився на 16,85 % ($p < 0,05$), вміст глутамату знизився в 1,40 разу ($p < 0,01$), а рівень аспартату зменшився в 1,25 разу ($p < 0,01$) щодо КП.

Целекоксиб, який використано як референтний протизапальний препарат з помірними протисудомними властивостями, сприяв достовірному щодо показника КП збільшенню рівня гліцину на 13,48 % ($p < 0,05$) та зниженню вмісту глутамату на 14,49 % ($p < 0,05$).

На тлі введення досліджуваної сполуки Les-6222 спостерігали статистично значуще зниження вмісту збуджувальної амінокислоти глутамату, яка відіграє провідну роль у розвитку судом, на 16,26 % ($p < 0,01$) проти показника КП. На вміст решти нейротрансмітерних амінокислот сполука Les-6222 статистично значуще не впливала, зокрема рівень гальмівного медіатора ГАМК тенденційно збільшувався на 9,7 % щодо КП, вміст збуджувальної амінокислоти аспартату зменшувався на 6 %.

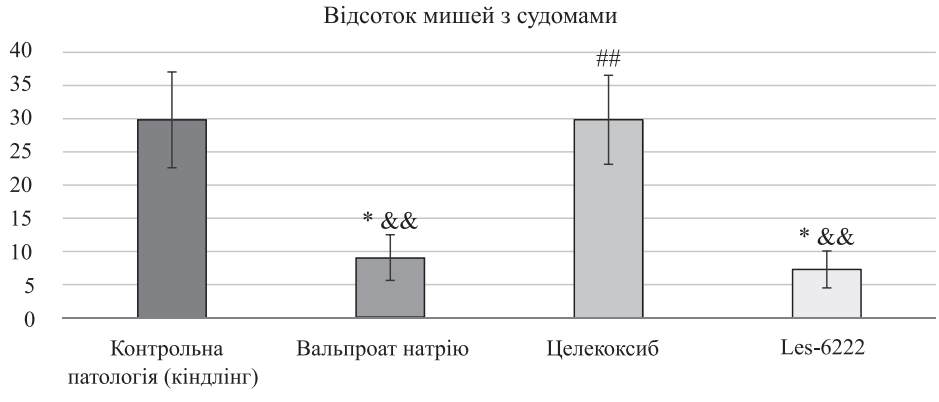

Рис. 3. Кількість тварин з судомами на моделі пентилентетразолового кіндлінгу

*Примітка. *Достовірні відмінності з групою КП, $p < 0,05$; ##достовірні відмінності з групою вальпроату натрію, $p < 0,01$; &&достовірні відмінності з групою целекоксибу, $p < 0,01$.*

Таблиця

Вміст нейротрансмітерних амінокислот у головному мозку мишей за відтворювання моделі пентилентетразолового кіндлінгу та впливу 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону (M ± m)

Група, кількість тварин	Доза, мг/кг	ГАМК, мкмоль/г	Гліцин, мкмоль/г	Глутамат, мкмоль/г	Аспартат, мкмоль/г
Інтактний контроль (n = 6)	–	7,40 ± 0,09	1,38 ± 0,04	13,17 ± 0,19	3,37 ± 0,14
Контрольна патологія (n = 6)	40	3,49 ± 0,15**	0,89 ± 0,02**	28,84 ± 0,86**	5,08 ± 0,08**
Вальпроат натрію (n = 6)	300	6,04 ± 0,08**, ##	1,04 ± 0,04**, #	20,54 ± 0,45**, ##	4,08 ± 0,13*, ##
Целекоксиб (n = 6)	4	3,91 ± 0,11**, &&	1,01 ± 0,03**, #	24,66 ± 0,62**, #, &&	4,93 ± 0,13**, &&
Les-6222 (n = 6)	100	3,83 ± 0,11**, &&	0,83 ± 0,04**, &&, ^	24,15 ± 0,51**, ##, &&	4,78 ± 0,21**, &

*Примітка. Достовірні відмінності щодо інтактного контролю: *p < 0,05, **p < 0,01; достовірні відмінності щодо КП: #p < 0,05, ##p < 0,01; достовірні відмінності щодо групи вальпроату натрію: &p < 0,05, &&p < 0,01; достовірні відмінності щодо групи целекоксибу: ^p < 0,01; n – кількість тварин.*

Отже, PTZ-кіндлінг призводить до дисбалансу медіаторів у головному мозку тварин, збільшує рівень збуджувальних і зменшує вміст гальмівних амінокислот. Досліджувана сполука 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинон статистично значуще зменшує церебральний рівень глутамату в мишей, що можна розцінювати як одну з ланок механізму дії потенційного антиконвульсанта. Очевидно, що впливом на пул нейроактивних амінокислот механізм його протисудомної дії не вичерпується.

Зважаючи на результати наших попередніх досліджень [4, 5], 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону властивий стимулювальний вплив на ГАМК-ергічні гальмівні процеси, що підтверджується виразним антагонізмом до PTZ [4] і помірним до бікукуліну, протидія блокаді хлорного каналу $ГАМК_А$-рецепторного комплексу (антагонізм на моделі пікротоксинових судом) [5]. Відсутність значного збільшення вмісту ГАМК у головному мозку дає підставу припустити, що досліджувана сполука реалізує ГАМК-позитивні властивості шляхом збільшення чутливості ГАМК-рецепторів. Ця гіпотеза потребує окремої перевірки. На підставі виразної активності на моделі кофеїнових пароксизмів [5] можна також припустити посилення аденозинергічних механізмів як одного з механізмів дії сполуки Les-6222. Ще однією ланкою механізму дії сполуки Les-6222 може бути пригнічення потенціал-залежних натрієвих каналів, на яке вказує ефективність сполуки Les-6222 на моделі максимального електрошоку [4]. Виявлена в цьому дослідженні відсутність впливу 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону на знижений вміст гліцину певною мірою відповідає мінімальній ефективності на стрихніновій моделі судом [5], а зниження надмірно високого вмісту збуджувальної амінокислоти глутамату може бути частиною механізму нормалізувального впливу на баланс «збудження-гальмування» у центральній нервовій системі та протидії глутаматній ексайтотоксичності.

Висновки

1. На моделі хронічного епілептогенезу – пентилентетразолового кіндлінгу – 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинон (100 мг/кг) за 16-денного введення виявляє високу протисудомну активність, запобігаючи розвитку вторинно-генералізованих судом на рівні класичного антиконвульсанта вальпроату натрію (300 мг/кг). Целекоксиб (4 мг/кг) не чинить протисудомного ефекту.
2. Наприкінці 16-денного введення низьких доз пентилентетразолу в головному мозку достовірно зменшується вміст гальмівних амінокислот (ГАМК, гліцин) і зростає рівень збуджувальних (глутамат, аспартат). 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинон достовірно зменшує вміст глутамату, тенденційно – аспартату, тенденційно збільшує рівень ГАМК без впливу на вміст гліцину. Не поступаючись класичному антиконвульсанту вальпроату натрію за протисудомним ефектом, за аміноацидергічною ланкою механізму дії досліджувана сполука відрізняється від нього відсутністю нормалізувального впливу на вміст усіх 4 досліджених амінокислот.
3. Результати зумовлюють доцільність подальшого дослідження механізму дії перспективного антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону.

1. Epilepsy in adults. R. D. Thijs, R. Surges, T. J. O'Brien, J. W. Sander. *Lancet*. 2019. V. 393 (10172). P. 689–701.
2. 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.
3. *Weaver D. F., Pohlmann-Eden B.* Pharmacoresistant epilepsy: unmet needs in solving the puzzle(s). *Epilepsia*. 2013. V. 54, Suppl 2. P. 80–85.
4. Скринінгове дослідження нових похідних тіазолідинону на протисудомну активність. М. В. Міщенко, С. Ю. Штриголь, Р. Б. Лесик та ін. *Запорізький медичний журнал*. 2020. Т. 22, № 6 (123). С. 840–846.
5. *Міщенко М. В., Штриголь С. Ю*. Спектр антиконвульсантної активності та гостра токсичність 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2020. Т. 14, № 6. С. 389–396.
6. A review on chemical induced kindling models of epilepsy. A. Kumar, N. Sharma, M. Bhardwaj, S. Singh. *Journal of Veterinary Medicine and Research*. 2016. V. 3 (3). P. 1050.
7. Cyclooxygenase-2/PGE2 pathway facilitates pentylenetetrazol-induced seizures. M. S. Oliveira et al. *Epilepsy Research.* 2008. V. 79 (1). P. 14–21.
8. *Сергиенко В. И., Бондарева И. Б., Маевский Е. И*. Методические рекомендации по статистической обработке результатов доклинических исследований лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая; под ред. А. Н. Миронова. Москва : Гриф и К, 2012. С. 890–940.
9. *Стефанов А. В*. Доклинические исследования лекарственных средств: методические рекомендации. Киев : ВД «Авіцена», 2002. 528 с.
10. *Зайцева Т. Н., Тюлєнєва І. М*. Метод хроматографічного розділення амінокислот. *Лабораторна справа.* 1958. Т. 3. С. 24–30.
11. *Материнская Н. П*. Определение белка в гомогенатах тканей: практикум по биол. химии. Москва : Высш. шк., 1970. 296 с.
12. *Гланц С*. Медико-биологическая статистика. Москва : Практика, 1998. 459 с.

М. В. Міщенко, С. Ю. Штриголь, Т. В. Горбач

Вплив потенційного антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону на вміст нейротрансмітерних амінокислот у головному мозку мишей на моделі пентилентетразолового кіндлінгу

Мета дослідження – з'ясувати ефективність потенційного антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинону (Les-6222) на моделі пентилентетразолового

кіндлінгу в мишей і визначити його вплив на вміст нейротрансмітерних амінокислот (гамма-аміномасляна кислота (ГАМК), гліцин, глутамат, аспартат).

Дослідження виконано на 33 білих нелінійних мишах на моделі пентилентетразолового кіндлінгу, яка відтворює хронічний епілептогенез. Пентилентетразол у дозі 30 мг/кг вводили внутрішньоочеревинно протягом 16 діб. Досліджувану сполуку Les-6222 застосовували в дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково (в/ш). Як препарати порівняння використано вальпроат натрію (300 мг/кг в/ш) і целекоксиб (4 мг/кг в/ш). Спостерігали за динамікою перебігу судом. На 16 день у тварин вилучали головний мозок та заморожували рідким азотом. У гомогенаті мозку визначали вміст нейротрансмітерних амінокислот методами високовольтного електрофорезу (ГАМК, глутамат, аспартат) і тонкошарової хроматографії на пластинах Silufol (гліцин).

5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинон виявив високу (на рівні вальпроату натрію) протисудомну активність, яка визначалася статистично достовірним зниженням кількості тварин з судомами з 8 по 16 день екпериментy ($p < 0,05$) та статистично значущим зменшенням кількості днів без пароксизмів у тварин ($p < 0,05$). Порівняно з групою контрольної патології відсоток тварин з пароксизмами протягом експерименту був на 22,54 % меншим ($p < 0,05$). Целекоксиб не виявив протисудомного ефекту. У головному мозку мишей групи контрольної патології достовірно зменшувався вміст гальмівних (ГАМК, гліцин) і зростав рівень збуджувальних (глутамат, аспартат) амінокислот. 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинон на 16,26 % ($p < 0,01$) знижував підвищений вміст глутамату, а також тенденційно зменшував рівень аспартату і збільшував вміст ГАМК, але не гліцину. Це відрізняє за механізмом дії досліджувану сполуку від вальпроату натрію, який сприяв нормалізації вмісту всіх досліджуваних амінокислот.

Таким чином, перспективний антиконвульсант 5-[(Z)-(4-нітробензиліден)]-2-(тіазол-2-іліміно)-4-тіазолідинон на моделі хронічного епілептогенезу (пентилентетразоловий кіндлінг) у мишей виявляє виразну протисудомну дію, у механізмі якої може відігравати певну роль достовірне зменшення церебрального вмісту глутамату.

Ключові слова: епілепсія, протиепілептичні препарати, похідні тіазолідинону, амінокислоти, пентилентетразоловий кіндлінг

М. В. Мищенко, С. Ю. Штыголь, Т. В. Горбач

Влияние потенциального антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нитробензилиден)]-2-(тиазол-2-илимино)-4-тиазолидинона на содержание нейротрансмиттерных аминокислот в головном мозге мышей на модели пентилентетразолового киндлинга

Цель исследования – изучить эффективность потенциального антиконвульсанта 5-[(Z)-(4-нитробензилиден)]-2-(тиазол-2-илимино)-4-тиазолидинона (Les-6222) на модели пентилентетразолового киндлинга у мышей и определить его влияние на содержание нейротрансмиттерных аминокислот (гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), глицин, глутамат, аспартат).

Исследование выполнено на 33 белых нелинейных мышах на модели пентилентетразолового киндлинга, воспроизводящей хронический эпилептогенез. Пентилентетразол в дозе 30 мг/кг вводили внутрибрюшинно в течение 16 суток. Исследуемое соединение Les-6222 применяли в дозе 100 мг/кг внутрижелудочно (в/ж). В качестве препаратов сравнения использованы вальпроат натрия (300 мг/кг в/ж) и целекоксиб (4 мг/кг в/ж). Наблюдали за динамикой течения судорог. На 16-й день у животных изымали головной мозг и замораживали жидким азотом. В гомогенате мозга определяли содержание нейротрансмиттерных аминокислот методами высоковольтного электрофореза (ГАМК, глутамат, аспартат) и тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol (глицин).

5-[(Z)-(4-нитробензилиден)]-2-(тиазол-2-илимино)-4-тиазолидинон проявил высокую (на уровне вальпроата натрия) антиконвульсантную активность, определявшуюся статистически достоверным снижением количества животных с судорогами с 8 по 16 день эксперимента ($p < 0,05$) и статистически значимым уменьшением количества дней без пароксизмов у животных ($p < 0,05$). По сравнению с группой контрольной патологии процент животных с судорогами в течение эксперимента был на 22,54 % меньше ($p < 0,05$). Целекоксиб не оказал противосудорожного эффекта. В головном мозге мышей группы контрольной патологии достоверно уменьшалось содержание тормозных (ГАМК, глицин) и возрастал уровень возбуждающих (глутамат, аспартат) аминокислот. 5-[(Z)-(4-нитробензилиден)]-2-(тиазол-2-илимино)-4-тиазолидинон на 16,26 % ($p < 0,01$) снижал повышенное содержание глутамата, а также на уровне тенденции уменьшал уровень аспартата и увеличивал содержание ГАМК, но не глицина. Это отличает механизм действия исследуемого соединения от вальпроата натрия, который способствовал нормализации содержания всех исследуемых аминокислот.

Таким образом, перспективный антиконвульсант 5-[(Z)-(4-нитробензилиден)]-2-(тиазол-2-илимино)-4-тиазолидинон на модели хронического эпилептогенеза (пентилентетразоловый киндлинг) у мышей оказывает выраженное противосудорожное действие, в механизме которого может играть определенную роль достоверное уменьшение церебрального содержания глутамата.

Ключевые слова: эпилепсия, противоэпилептические препараты, производные тиазолидинона, аминокислоты, пентилентетразоловый киндлинг

M. V. Mishchenko, S. Yu. Shtrygol', T. V. Gorbach

Effect of a potential anticonvulsant 5-[(Z)-(4-nitrobenzylidene)]-2-(thiazol-2-ylimino)-4-thiazolidinone on the content of neurotransmitter amino acids in the mouse brain on the pentylenetetrazole kindling model

The aim of the study – to research the effectiveness of a potential anticonvulsant 5-[(Z)-(4-nitrobenzylidene)]-2-(thiazol-2-ylimino)-4-thiazolidinone (Les-6222) on the pentylenetetrazole kindling model in mice and determine its effect on the content of neurotransmitter amino acids (GABA, glycine, glutamate, aspartate).

The study was performed on 33 white non-linear mice on a pentylenetetrazole kindling model that reproduces chronic epileptogenesis. Pentylenetetrazole at a dose of 30 mg/kg was administered intraperitoneally for 16 days. The test compound Les-6222 was administered at a dose of 100 mg/kg intragastrically (i. g.). Sodium valproate (300 mg/kg i. g.) and celecoxib (4 mg/kg i. g.) were used as reference drugs. The dynamic of the course of convulsions was observed. On the 16th day the brains were removed and frozen in liquid nitrogen. The content of neurotransmitter amino acids in the brain homogenate was determined by high voltage electrophoresis (GABA, glutamate, aspartate) and thin-layer chromatography on Silufol plates (glycine).

5-[(Z)-(4-nitrobenzylidene)]-2-(thiazol-2-ylimino)-4-thiazolidinone showed high (at the level of sodium valproate) anticonvulsant activity, determined by a statistically significant decrease in the number of animals with seizures from 8 to 16 days of the experiment ($p < 0.05$) and a statistically significant decrease in the number of days without paroxysms in animals ($p < 0.05$). Compared to the control pathology group, the percentage of animals with seizures during the experiment was 22.54 % less ($p < 0.05$). Celecoxib had no anticonvulsant effect. In the brain of mice of the control pathology group, the content of inhibitory (GABA, glycine) amino acids significantly decreased and the level of excitatory (glutamate, aspartate) neurotransmitters increased. 5-[(Z)-(4-nitrobenzylidene)]-2-(thiazol-2-ylimino)-4-thiazolidinone significantly reduced the elevated glutamate content by 16.26 % ($p < 0.01$), and also tendentiously reduced the level aspartate and increased the content of GABA, but not glycine. This distinguishes the mechanism of action of the studied compound from sodium valproate, which contributed to the normalization of the content of all the studied amino acids.

The promising anticonvulsant 5-[(Z)-(4-nitrobenzylidene)]-2-(thiazol-2-ylimino)-4-thiazolidinone in a model of chronic epileptogenesis (pentylenetetrazole kindling) on mice showed a pronounced anticonvulsant effect, which is maybe realized by a significant decrease in the cerebral glutamate content.

Key words: epilepsy, antiepileptic drugs, thiazolidinone derivatives, amino acids, pentylenetetrazole kindling

Надійшла: 19 січня 2022 р.

Прийнята до друку: 16 лютого 2022 р.

Контактна особа: Міщенко Марія Віталіївна, аспірант, кафедра фармакології та фармакотерапії, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Куликівська, м. Харків, 61003.
Електронна пошта: mischmasha@gmail.com