

УДК 615.038

# ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ АСПЕКТОВ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ АМИДОВ ФЕНИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*М.В. Черников, А.В. Сосновская, Д.И. Поздняков*

*Пятигорский медико-фармацевтический институт –  
филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

В статье представлены результаты изучения нейропротекторной активности диамидов карбоновых кислот в условиях фокальной ишемии головного мозга. Исследование проводилось на крысах-самцах линии Wistar, которым воспроизводили фокальную ишемию методом необратимой окклюзии правой средней мозговой артерии. Исследуемые соединения под шифрами FacAc, FacPr, FisBut, Faib, препарат сравнения пирацетам вводили на следующие сутки после операции интрагастрально в дозе 30 мг/кг и далее в течение трех дней. Нейропротекторная активность соединений изучалась на моделях оценки памяти и когнитивных функций. Также изучалось влияние соединений на величину зоны некроза. В ходе исследования установлено, что на фоне фокальной церебральной ишемии применение изучаемых веществ способствовало сохранению памятного следа у крыс, а также снижению зоны некроза. Результаты экспериментальных данных свидетельствуют о возможности дальнейшего углубленного изучения исследуемых соединений под лабораторными шифрами FacAc, FacPr, FisBut, Faib на предмет нейропротекторной активности.

**Ключевые слова:** ишемия, некроз, амиды фенилуксусной кислоты, пирацетам.

DOI 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-163-167

## STUDY OF SOME ASPETS NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF PHENYLACETIC ACID AMIDES UNDER CONDITIONS OF FOCAL BRAIN ISCHEMIA

*M.V. Chernikov, A.V. Sosnovskaya, D. I. Pozdnyakov*

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –  
affiliate of the FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation*

The article presents the results of studying the neuroprotective activity of carboxylic acid diamides under conditions of focal cerebral ischemia. The study was carried out on male Wistar rats, which underwent focal ischemia by irreversible occlusion of the right middle cerebral artery. The compounds under study under the codes FacAc, FacPr, FisBut, Faib, the reference drug piracetam were injected intragastrically on the next day after the operation at a dose of 100 mg/kg and then for three days. The neuroprotective activity of the compounds was studied using models for assessing memory and cognitive functions – the technique of avoiding passive (CPAR) and active (EMT) environments, and also studied the effect of compounds on the size of the necrosis zone. In the course of the study, it was found that, against the background of focal cerebral ischemia, the use of diamides of carboxylic acids contributed to the preservation of the memory trace in rats, as well as the necrosis zone. The results of experimental data indicate the possibility of further in-depth study of the compounds under study under laboratory codes FacAc, FacPr, FisBut, Faib for neuroprotective activity.

**Key words:** ischemia, necrosis, phenylacetic acid amides, piracetam.

Инсульт продолжает оставаться важнейшей медико-социальной проблемой, что обусловлено его высокой долей в структуре заболеваемости и смертности населения, со значительными показателями временных трудовых потерь и первичной инвалидности [5].

Инвалидизация вследствие инсульта занимает первое место среди всех причин первичной инвалидности [2]. В Российской Федерации проживают свыше 1 млн человек, перенесших инсульт, при этом треть из них составляют лица трудоспособного возраста, к труду же возвращается только каждый четвертый больной [3]. Таким образом, с учетом высоких показателей заболеваемости, смертности,

а также инвалидизации среди выживших после инсульта пациентов следует констатировать все еще огромный экономический и социальный ущерб от этого заболевания.

Таким образом, исходя из высокой медико-социально-экономической роли ишемического инсульта, совершенствование уже имеющихся и разработка новых путей профилактики и фармакокоррекции церебральной ишемии считают одной из приоритетных задач современной медицины [4].

Недавние исследования в вопросе о пост-инсультной реабилитации укрепили идею о том, что нейропротективное воздействие в сочетании

со специфической терапией может снизить частоту инвалидизации после перенесенного инсульта [1]. Актуальным для исследователей является поиск соединений, способных минимизировать последствия острых нарушений мозгового кровообращения, улучшая когнитивные процессы лиц, перенесших инсульт. К числу таких потенциально эффективных нейропротекторов можно отнести диамиды карбоновых кислот, действие которых направлено на восстановление митохондриальной функции [12].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить нейропротекторное действие амидов фенилуксусной кислоты в условиях фокальной ишемии головного мозга.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

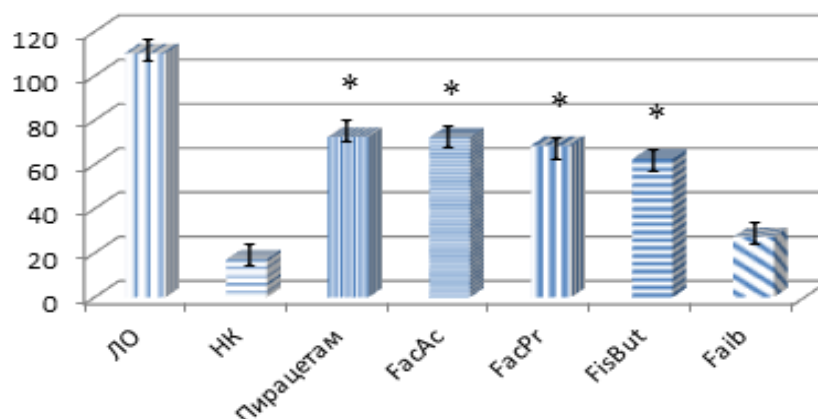
Эксперимент был проведен на 30 крысах-самцах линии Wistar массой 220–240 г, разделенных на 5 равных групп ( $n = 6$ ). Эксперимент выполнен в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Предварительно животные были рандомизированы по поведенческой активности в тесте условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ) [8] и тесте экстраполяционное избегание (ТЭИ), а также массе [13]. Согласно протоколу исследования, были сформированы следующие экспериментальные группы: первая группа крыс – ложнооперированные (Л/О) животные; вторая группа животных – группа негативного контроля (НК) – получала 0,9%-й раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме группы крыс, которым вводили референтный препарат и исследуемые соединения. Вторую и последующим группам крыс воспроизводили ишемию головного мозга методом необратимой правосторонней термокоагуляции средней мозговой артерии [3].

В качестве препарата сравнения использован пирацетам (800 мг/кг, Мосхимфарм-препараты, Россия) [9]. Препарат сравнения и исследуемые соединения вводили интрагастрально на следующие сутки после воспроизведения ишемии и далее на протяжении 3 суток. Исследуемые соединения, под лабораторными шифрами FacAc, FacPr, FisBut, Faib, вводили животным в дозе 30 мг/кг [12]. На четвертые сутки после моделирования церебральной ишемии проводили УРПИ и ТЭИ. Далее, крыс декапитировали под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг) и проводили оценку изменений величины зоны некроза.

Оценку зоны некроза производили трифенилтетразолиевым методом [8]. Обработку результатов эксперимента проводили методом вариационной статистики с применением пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows). Сравнение средних значений производили методом ANOVA с апостериорным критерием Ньюмена – Кейсла.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте УРПИ у крыс, получавших пирацетам, было установлено увеличение латентного периода первого захода в темный отсек в 4,0 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой крыс НК. Значительное увеличение времени захода в темный отсек также было замечено у группы, которой вводили исследуемое соединение под лабораторным шифром FacAc, – в 4,2 раза ( $p < 0,05$ ) относительно группы животных НК. На фоне введения соединений FacPr, FisBut отмечено повышение латентного времени захода в темный отсек по отношению к НК группе крыс в 3,8 ( $p < 0,05$ ) и 3,9 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. При введении животным исследуемого соединения под лабораторным шифром Faib статистически значимых изменений относительно НК животных не наблюдалось (рис. 1).

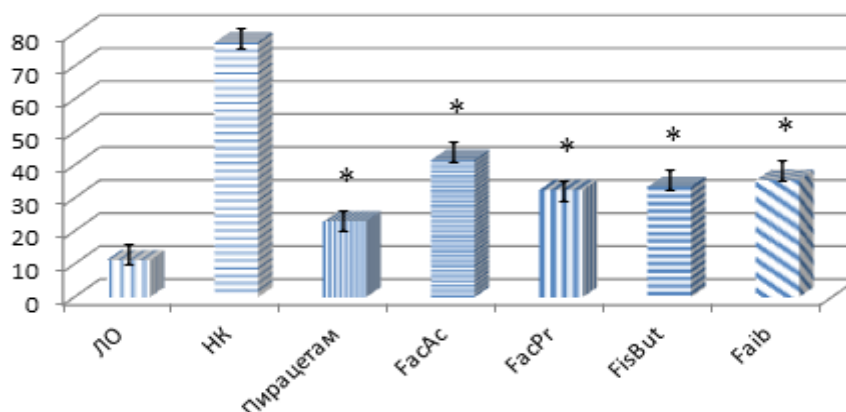


\*Статистически значимо относительно НК группы крыс

Рис. 1. Поведенческая активность экспериментальных животных в тесте «УРПИ»

Время «подныривания» в тесте экстраполяционного избегания у группы, получавшей пирацетам, уменьшилось в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ) относительно группы крыс НК. После введения животным исследуемого соединения

под лабораторным шифром FacPr, FacAC и FisBut время «подныривания» было сокращено в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ); 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) и 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно в сравнении с группой животных НК (рис. 2).

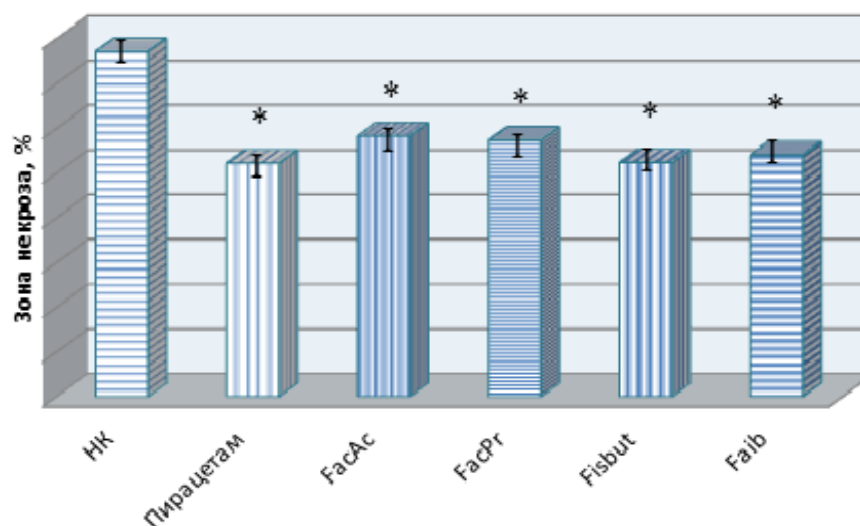


\*Статистически значимо относительно НК группы крыс ( $p < 0,05$ )

Рис. 2. Поведенческая активность экспериментальных животных в тесте «ТЭИ»

При введении пирацетама крысам в течение трех дней наблюдалось уменьшение зоны некроза мозговой ткани: на 22,2 % ( $p < 0,05$ ) относительно группы крыс НК. Введение животным исследуемых соединений под лабо-

раторными шифрами FacPr, FacAC, FisBut и Faib также вызывало уменьшение зоны некроза на 19,6 % ( $p < 0,05$ ); 16,7 % ( $p < 0,05$ ); 20,2 % ( $p < 0,05$ ) и 19,8 % ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой животных НК соответственно (рис. 3).



\*Статистически значимо относительно НК группы крыс (критерий Ньюмена – Кейсла;  $p < 0,05$ )

Рис. 3. Влияние исследуемых соединений и пирацетама на некроз мозговой ткани в условиях фокальной ишемии

Несмотря на достигнутые успехи в профилактике, диагностике и лечении нарушения мозгового кровообращения, ишемический инсульт по-прежнему остается одной из ведущих медико-социально-экономических проблем современной медицины. Во многом данный факт связан со сложностью патогенеза и лечения данного патологического состояния. Известно, что ведущий метод терапии ишемического инсульта –

эффективный тромболизис имеет ряд существенных недостатков (малое «терапевтическое окно», риск геморрагических осложнений), которые могут быть скорректированы путем применения соединений, обладающих нейропротекторной активностью [10].

Данное исследование было посвящено изучению нейропротекторного потенциала амидов фенилуксусной кислоты в условиях перманентной фокальной

ишемии у крыс. В итоге, было установлено, что введение исследуемых соединений способствовало восстановлению памятного следа у животных, что подтверждалось результатами, полученными в тестах «условный рефлекс пассивного избегания» и «экстраполяционное избегание». Также на фоне применения изучаемых веществ было отмечено снижение зоны некроза мозговой ткани по отношению к крысам, не получавшим фармакологическую поддержку. При этом подобное действие исследуемых амидов фенилуксусной кислоты может быть связано с влиянием данных соединений на несколько патогенетических механизмов повреждения головного мозга при ишемии. Так, в ранее проведенных исследованиях было установлено, что применение изучаемых веществ в условиях церебральной ишемии способствовало восстановлению митохондриальной функции, сопряженной с увеличением синтеза макроэргических фосфатов и подавлением реакций апоптоза [12]. Согласно литературным данным изучаемые вещества, как представители ряда производных фенилуксусной кислоты, вероятно, могут подавлять реакции воспаления в мозговой ткани и лимитировать глутаматно-кальциевую эксайтотоксичность. В работе Wang Y. и соавт. (2012), было установлено, что амидированные производные фенилуксусной кислоты проявляют свойства антагонистов рецепторов DP1 (рецепторов простагландина D2) [14], блокада которых существенно уменьшает интенсивность нейровоспаления и эксайтотоксичность [7]. Кроме того, на фоне введения исследуемых соединений возможно подавление окислительного стресса, что связано с наличием у производных фенилуксусной кислоты антиоксидантных свойств [11].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Воспроизведение фокальной ишемии головного мозга вызывает некроз мозговой ткани у крыс (52,38 %), а также когнитивные нарушения, что подтверждается в тестах УРПИ и ТЭИ, проведенных после операции.

2. Введение крысам пираретама (800 мг/кг) приводило к уменьшению зоны некроза головного мозга у животных на 22,2 % ( $p < 0,05$ ), а также восстановлению памятного следа у животных.

3. Применение исследуемых соединений также способствовало уменьшению величины зоны некроза мозговой ткани – FacPr – 19,6 % ( $p < 0,05$ ); FacAC – 16,7 % ( $p < 0,05$ ); FisBut – 20,2 % ( $p < 0,05$ ) и Faib – 19,8 % ( $p < 0,05$ ) – и восстановлению когнитивных функций у крыс.

4. Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о перспективности дальнейшего углубленного изучения диамидов карбоновых кислот на предмет нейропротекторной активности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аникина В.А., Лагунова Н.Л., Субботина Т.И. Изучение влияния экспериментальных препаратов на головной мозг интактных крыс линии sd // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2019. – Т. 13, № 3. – С. 156–164. – URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-3/3-5.pdf>.
2. ВОЗ. 10 ведущих причин смерти в мире // Информационный бюллетень. – 2018. – URL: [www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top10-causes-of-death](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top10-causes-of-death).
3. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В. Изучение вазодилатирующей и антитромботической функций эндотелия мозговых сосудов на различных моделях его ишемического повреждения // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5.
4. Костенко Е.В., Энеева М.А., Кравченко В.Г. Актуальные вопросы организации медицинской реабилитации пациентов, перенесших транзиторную ишемическую атаку // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2019. – № 3. – С. 44–49.
5. Мачинский П.А., Плотнокова Н.А., Ульянов В.Е. и др. Сравнительная характеристика показателей заболеваемости ишемическим и геморрагическим инсультом в России // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2019. – № 2 (50). – С. 112–132.
6. Назарова Л.Е., Дьякова И.Н. Влияние кислоты феруловой на зону некроза, возникающего в результате окклюзии средней мозговой артерии // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – № 3. – С. 133–135.
7. Ahmad A.S., Ahmad M., Maruyama T., et al. Prostaglandin D2 DP1 receptor is beneficial in ischemic stroke and in acute excitotoxicity in young and old mice // Age (Dordr). – 2010. – Vol. 32, № 3. – P. 271–282.
8. Bondarenko N.A. Anxiety and the Problem of «Inattention» Animals in Water Maze Tests // The Russian Journal of Cognitive Science. – 2017. – Vol. 4, № 4. – P. 45–51.
9. Keil U., Scherping I., Hauptmann S., et al. Piracetam improves mitochondrial dysfunction following oxidative stress // British Journal of Pharmacology. – 2006. – Vol. 147, № 2. – P. 199–208.
10. Majid A. Neuroprotection in stroke: past, present, and future // International Scholarly Research Notices. – 2014. – Т. 2014. – Article ID 515716.
11. Nahar L., Russell W.R., Middleton M., et al. Antioxidant phenylacetic acid derivatives from the seeds of *Ilex aquifolium* // Acta Pharm. – 2005. – Vol. 55, № 2. – P. 187–193.
12. Pozdnyakov D.I., Voronkov A.V., Kodonidi I.P., et al. Neuroprotective effect of organic acids diamides. Focus on changing mitochondrial function // Pharmacology Online. – 2020. – Vol. 1. – P. 237–247.
13. Schallert T., Woodlee M.T., Fleming S.M. Disentangling multiple types of recovery from brain injury // Pharmacology of cerebral ischemia. – 2002. – Vol. 2002. – P. 201–216.
14. Wang Y., Fu Z., Schmitt M., et al. Optimization of phenylacetic acid derivatives for CRTH2 and DP selective antagonism // Bioorg Med Chem Lett. – 2012. – Vol. 22, № 1. – P. 367–370.

# REFERENCES

1. Anikina V. A., Lagunova N. L., Subbotina T. I. Izuchenie vliyaniya eksperimental'nyh preparatov na golovnoj mozg intaktnyh kryis linii sd [Study of the effect of experimental drugs on the brain of intact sd rats]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoye izdaniye* [Bulletin of new medical technologies. Electronic edition], 2019, vol. 13, no. 3, pp. 156–164. URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-3/3-5.pdf>. (In Russ.; abstr. in Engl.).
2. VOZ. 10 vedushchih prichin smerti v mire. [WHO. 10 leading causes of death in the world]. *Informacionnyy byulleten'* [Newsletter]. URL: [www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top10-causes-of-death](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top10-causes-of-death). (In Russ.; abstr. in Engl.).
3. Voronkov A.V., Pozdnyakov D.I., Mamleev A.V. Izuchenie vazodilatornykh funktsij endoteliya mozgovykh sosudov na razlichnykh modelyakh ego ishemicheskogo povrezhdeniya [Study of the vasodilating and antithrombotic functions of the endothelium of cerebral vessels on various models of its ischemic damage]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education], 2015, no. 5. (In Russ.; abstr. in Engl.).
4. Kostenko E.V., Eneeva M.A., Kravchenko V.G. Aktual'nye voprosy organizatsii medicinskoj rehabilitatsii pacientov, perenesshih tranzitornuyu ishemicheskuyu ataku [Topical issues of the organization of medical rehabilitation of patients who have undergone a transient ischemic attack]. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Bulletin of the Russian State Medical University], 2019, no. 3, pp. 44–49. (In Russ.; abstr. in Engl.).
5. Machinskij P.A., Plotnikova N.A., Ul'yankin V.E., et al. Sravnitel'naya harakteristika pokazatelej zaboлеваemosti ishemicheskimi i gemorragicheskimi insultami v Rossii [Comparative characteristics of the incidence rates of ischemic and hemorrhagic stroke in Russia]. *Izvestiya vysshih uchebnykh zavedenij. Povolzhskij region. Medicinskie nauki* [Proceedings of higher educational institutions. Volga region. Medical sciences], 2019, no. 2 (50), pp. 112–132. (In Russ.; abstr. in Engl.).
6. Nazarova L.E., D'yakova I.N. Vliyanie kisloty ferulovoj na zonu nekroza, vznikayushchego v rezul'tate okklyuzii srednej mozgovoy arterii [Influence of ferulic acid on the zone of necrosis resulting from occlusion of the middle cerebral artery]. *Meditsinskij vestnik Bashkortostana* [Medical Bulletin of Bashkortostan], 2011, no. 3, pp. 133–135. (In Russ.; abstr. in Engl.).
7. Ahmad A.S., Ahmad M., Maruyama T., et al. Prostaglandin D2 DP1 receptor is beneficial in ischemic stroke and in acute excitotoxicity in young and old mice. *Age (Dordr)*, 2010, vol. 32, no. 3, pp. 271–282.
8. Bondarenko N.A. Anxiety and the Problem of «Inattentive» Animals in Water Maze Tests. *The Russian Journal of Cognitive Science*, 2017, vol. 4, no. 4, pp. 45–51.
9. Keil U., Scherping I., Hauptmann S., et al. Piracetam improves mitochondrial dysfunction following oxidative stress. *British Journal of Pharmacology*, 2006, vol. 147, no. 2, pp. 199–208.
10. Majid A. Neuroprotection in stroke: past, present, and future // *International Scholarly Research Notices*, 2014, vol. 2014, Article ID 515716.
11. Nahar L., Russell W.R., Middleton M., et al. Antioxidant phenylacetic acid derivatives from the seeds of *Ilex aquifolium*. *Acta Pharm*, 2005, vol. 55, no. 2, pp. 187–193.
12. Pozdnyakov D.I., Voronkov A.V., Kodonidi I.P., et al. Neuroprotective effect of organic acids diamides. Focus on changing mitochondrial function. *Pharmacology Online*, 2020, vol. 1, pp. 237–247.
13. Schallert T., Woodlee M.T., Fleming S.M. Disentangling multiple types of recovery from brain injury. *Pharmacology of cerebral ischemia*, 2002, vol. 2002, pp. 201–216.
14. Wang Y., Fu Z., Schmitt M., et al. Optimization of phenylacetic acid derivatives for CRTH2 and DP selective antagonism. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, vol. 22, no. 1, pp. 367–370.

## Контактная информация

**Поздняков Дмитрий Игоревич** – к. фарм. н., доцент, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: [pozdnickow.dmitry@yandex.ru](mailto:pozdnickow.dmitry@yandex.ru)