

НОВЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ НЕЙРОТРОПНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Кравченко Е.В.¹, Бизунок Н.А.²

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси;

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Приоритетной задачей современной медицины является создание лекарственных средств анксиолитического и ноотропного действия. Нами предложено несколько методических подходов, позволяющих усовершенствовать процесс разработки потенциального нейротропного средства.

Мнестические нарушения, моделирующие локальную дисфункцию глутамат- и дофаминергической нейротрансмиттерных систем, в тесте габитуации. Габитуация или привыкание – феномен снижения реакции после продолжительного ряда повторений стимула. Габитуация исследовательской активности предложена в качестве скринингового теста для изучения ноотропов [3]. Целесообразно расширение возможностей указанной методики, что может достигаться посредством использования амнезирующих агентов, в числе которых – канальный блокатор NMDA-рецепторов глутаматергической нейромедиаторной системы МК-801.

Использование инбредных крыс SHR в качестве животной модели в тесте экстраполяционного избавления (ТЭИ). В научно-методической литературе описана методика нарушений адаптивного поведения в ТЭИ [4] с применением L-ДОФА (леводопа) [2]. В ТЭИ оценивается способность крыс осуществлять реакцию подныривания, являющуюся единственно возможным способом избавления из «острой» стресс-ситуации (животное находится внутри цилиндра, частично погруженного в воду) [4]. Поведение избавления полностью нарушается, заменяясь стереотипной гиперактивностью в форме безуспешных попыток избегания (прыжки и карабкание на стенки цилиндра) у крыс, получивших L-ДОФА [2]. Поскольку инбредные крысы SHR характеризуются генетически обусловленными нарушениями поведения вследствие дисфункции дофаминергической (ДА) нейротрансмиссии [5], перспективно проведение ТЭИ с участием грызунов этой линии для поиска корректоров соответствующего патологического состояния. В качестве аггравирующих факторов могут рассматриваться ювенильный возраст SHR и депривация парадоксальной фазы сна (ДПФС), вызывающая изменения центральных дофаминергических (ДА) процессов, направленных в сторону усиления ДА-регуляции [1].

Использование стресс-индуцированных нарушений ультрадианных и циркадианных биологических ритмов активности для поиска анксиолитиков.

Биоритмы высокочувствительны к воздействию стресса. Обратное развитие стресс-индуцированного десинхроноза может применяться для прогнозирования противотревожного действия образцов. Ключевым звеном модели является «дозированный» стресс, который обеспечивал бы однотипное воздействие равной интенсивности на всех экспериментальных животных. В качестве такого стрессирующего воздействия нами предложена парадигма Tail Suspension Test (TST) – однократное подвешивание мыши за хвост на 6 мин.

Цель. Разработка и применение в практической деятельности новых подходов при создании препаратов ноотропного и анксиолитического действия.

Материалы и методы исследования. *Серия 1.* Крысам Wistar группы I (контроль) трижды вводили интрагастрально (и/г) растворитель (дистиллированная вода, ДВ) – в 1, 2 и 5 сут.; во 2 сут. дополнительно – ДВ в/б; особям группы II («модельная патология») применяли в том же режиме и/г ДВ, а кроме того, во 2 сут. – МК-801 (0,5 мг/кг, в/б). Грызунов во 2 сут. опыта поодиночке помещали в актометр и проводили 3-минутную регистрацию горизонтальной двигательной активности (ГДА). Повторную актометрию осуществляли в тех же условиях спустя 3 сут., через 30 мин после введения ДВ.

Серия 2. ТЭИ проводили в условиях моделирования расстройств адаптивного поведения и способности к экстраполяции, вызванных ДПФС по Jouvett et al. (1964) у крыс-самцов линии SHR. Ноотропные средства ускоряют реакцию избавления от стресс-ситуации. На протяжении 120 с регистрировали значения показателей, характеризующих когнитивные функции: время подныривания под край цилиндра (Т) и число животных, решивших задачу избавления за 40 с (N_1), за 120 с (N_2). Формировали 3 группы – половозрелым особям группы I и неполовозрелым крысам группы III назначали ДВ и не проводили процедуру ДПФС, половозрелым крысам группы II осуществляли ДПФС на фоне введения ДВ.

Серия 3. Моделировали нарушения циркадных ритмов у половозрелых аутбредных мышей ICR, вызванные стрессом умеренной интенсивности (6-минутное подвешивание за хвост в TST). Автоматическую регистрацию показателей вертикальной двигательной активности (ВДА) проводили в темноте на протяжении 3 последовательных сут. с использованием пакета программ "Mouse Statistic". В первый день опыта за 90 мин до помещения в камеру актометра осуществляли процедуру подвешивания за хвост животных группы II, исключая особей группы I (контроль), которые, кроме того, не подвергались стрессирующей процедуре и/г введения. Мышам группы II вводили ДВ и/г не позднее чем за 120-130 мин до высадки в камеры актометра. Посредством компьютерной программы (косинор-анализ) определяли акрофазу φ ритмов ВДА. Обработку результатов осуществляли с помощью программ Statistica 6.0, Biostat, Cosinor 2.5 for Excel (Шереметьев С.П., 2003), CorelDRAW 12.

Результаты и обсуждение. *Серия 1.* В связи с тем, что МК-801 может оказывать влияние на исходную подвижность грызунов (во 2 сут. опыта), учитывали только результаты повторного тестирования (в 5 сут.). У крыс Wistar группы I («норма») отмечено снижение уровня ГДА во 2 и 3 мин наблюдения в сравнении с 1

мин – на 23,2% и 48,2% соответственно ($P < 0,05$), что указывало на выраженную внутрисессионную габитуацию. Введение МК-801 грызунам группы II приводило к резким нарушениям внутри- и межсессионной габитуации, что проявлялось отсутствием значимых изменений ГДА относительно исходных значений на протяжении сеанса повторного тестирования ($P > 0,05$) и существенным возрастанием уровня локомоторной активности у крыс группы II относительно контроля (группа I) ($P < 0,05$).

Серия 2. Все крысы SHR группы I, не подвергшиеся ДПФС, сумели менее чем за 40 с поднырнуть под край цилиндра, значения T_1 составили $19,4 \pm 4,0$ с. Лишь 53,8% животных группы II (ДПФС, ДВ) были способны решить экспериментальную задачу за 40 с (различия с интактным контролем статистически достоверны, $P = 0,016$); 7,7% крыс не сумели успешно осуществить подныривание за 120 с; значения T_1 были равны $41,2 \pm 8,0$ с. Ювенильные крысы SHR решали задачу дольше, чем половозрелые особи той же линии – время подныривания составило $56,4 \pm 10,7$ с.

Серия 3. Акрофазы φ циркадного ритма ВДА нестрессированных мышей приходились на вечерние часы (группа I: в день 1 – 18:54, в день 3 – 18:36), что соответствует биоритмам активности грызунов в норме. Стресс в TST ведет к миграции акрофазы у особей группы II на более ранний период времени в день 1 (φ ВДА – 17:37) – различия с интактным контролем статистически достоверны ($P < 0,05$). На то, что смещение акрофазы вызвано стрессом, указывала нормализация названного показателя в группе II через 3 дня (φ в день 3 в группах I и II были равны 18:36 и 18:32).

Описанные выше методы применялись при разработке фармацевтических композиций на основе синтетических субстанций и сырья природного происхождения по патентам ВУ 14988, ВУ 15604, ВУ 14451, ВУ 15029, а также – ЛС «Рациум», БАД «Ментум» и «Ноотрицин» и позволили подтвердить фармакологическую активность перечисленных образцов.

Выводы. Целесообразно использование новых методов «модельной патологии» в исследованиях ноотропных и анксиолитических средств: мнестических нарушений, вызванных МК-801 и др., в тесте габитуации; использование взрослых крыс SHR в ТЭИ на фоне ДПФС или ювенильных – без таковой; моделирование дизритмий посредством «дозированного» стресса в TST.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко, Н. А. Эффект депривации парадоксальной фазы сна на ротационное и стереотипное поведение, вызванное селективными агонистами дофаминовых рецепторов / Н. А. Бондаренко [и др.] // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1990. – № 11. – С. 495-497.
2. Бондаренко, Н. А. Избирательное влияние нейролептиков на дофаминзависимое нарушение поведения крыс в тесте экстраполяционного избавления / Н. А. Бондаренко // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1990. – № 11. – С. 506-509.
3. Воронина, Т. А. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия / Т. А.

Воронина [и др.]. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств /под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 17. – С. 276–297.

4. Островская, Р. У. Методические рекомендации по изучению нейрореплетической активности лекарственных средств / Р. У. Островская [и др.]. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств /под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 16. – С. 251–263.

5. Spontaneously hypertensive rats (SHR) are resistant to a reserpine-induced progressive model of Parkinson's disease: differences in motor behavior, tyrosine hydroxylase and α -synuclein expression / А. Н. F. F. Leão [et al.] // Front. Aging Neurosci. [Электронный ресурс]. – 2017. – Sec. Parkinson's Disease and Aging-related Movement Disorders. – V.9 – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00078>. – Дата доступа: 04.04.2023.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ РЕСВЕРАТРОЛА В ОПЫТАХ *IN VITRO*

*Кузьмицкая И.А., Романчук А.В., Ерошенко Ю.В., Мороз В.Л.,
Белоновская Е.Б., Кирко С.Н.*

*Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»,
г. Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. В течение последнего десятилетия внимание фармакологов привлекает использование соединений природного происхождения, обладающих широким спектром биологического действия – противовоспалительным, инсулинсенсбилизирующим, иммуномодуляторным, антиоксидантным и антиапоптотическим. К таковым относятся растительные полифенолы. Высокая фармакологическая активность данных субстанций при различных патологических состояниях подтверждена многочисленными клиническими испытаниями [1, 2]. Показано, что антиоксидантные эффекты флавоноидов связаны с их способностью с высокой скоростью инактивировать свободные радикалы [3]. Преимуществом фитопрепаратов является их низкая токсичность и возможность длительного применения без развития побочных эффектов и привыкания, а также более низкая, по сравнению с синтетическими аналогами, стоимость. Ряд исследований рекомендует их применение при лечении ожирения, различных форм диабета, гипертензии и метаболического синдрома. Среди антиоксидантов, применяемых для коррекции патологии сердечно-сосудистой системы наиболее известен ресвератрол, полифенол из косточек винограда, содержащийся в красном вине [4].

Цель работы - оценка *in vitro* антиокислительных свойств ресвератрола на уровне клеточных органелл при воздействии на них *трет*-бутилгидропероксида.