

АНТИОКСИДАНТНА ТА ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНА ДІЯ N-, S-ВМІСНОГО ПОХІДНОГО ХІНАЗолОНУ ЗА ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В ЩУРІВ

Ю. І. ГУБСЬКИЙ¹, І. Ф. БЕЛЕНІЧЕВ², С. І. КОВАЛЕНКО²,
Г. Г. ГОРЮШКО¹, Н. В. БУХТІЯРОВА², Н. В. ЛІТВІНОВА¹, В. С. НІКІТІН²,
С. В. ПАВЛОВ², Л. П. БАБЕНКО¹

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ;

²Запорізький державний медичний університет, Україна;

e-mail: agor@i.ua

На моделі гострого порушення мозкового кровообігу в щурів встановлено антиоксидантну та церебропротекторну активність нового N-, S-похідного хіназолону – сполуки NC-224. За введення сполуки NC-224 відбувається корекція патобіохімічних порушень у системі «ліпопереокислення-антиоксидантний захист», показників вуглеводного обміну та енергозабезпечення, покращується морфофункціональний стан клітин головного мозку. Введення сполуки NC-224 щурам сприяє зменшенню показника летальності та проявів неврологічного дефіциту в дослідних тварин.

Ключові слова: ішемія головного мозку, антиоксидант, церебропротекторна дія, хіназолон, пірацетам.

Дослідженнями останніх десятиріч встановлено, що однією з ланок патогенезу нейродеструкції головного мозку є гіперпродукція активних форм кисню (АФК) та азоту (супероксидрадикал, гідроксилрадикал, пероксинітрит-аніон, гіпохлорид-аніон тощо) біоенергетичними та нейрохімічними системами клітини, що призводить до окислювальної модифікації та деструкції протеїнів, ліпідів і нуклеїнових кислот [1–3]. Подібні порушення, характерні для оксидативного та нітрозуючого стресу, змінюють структуру та функціонування протеїнових та ліпідних компонентів мембран нейронів, ініціюють апоптотичні процеси та розвиток запальних реакцій, а також погіршують специфічність нейрональних рецепторів, зокрема NMDA-рецепторів, порушують синаптичну провідність, секреторну, трансляційну та транскрипційну активність нейронів.

Виходячи із зазначеного, важливе місце у фармакотерапії патологічних станів, пов'язаних із розвитком оксидативного стресу в мозковій тканині, займають лікарські засоби нейропротекторної дії, яка ґрунтується на їхніх антиоксидантних біохімічних властивостях [4, 5, 17]. Встановлення антиокислювальної активності та генозахисної дії деяких похідних N-,S-вмісних хіназолонів в умовах *in vitro* та *in vivo* на моделі хімічного ураження гепатоцитів ксенобіотиком тетрахлорме-

таном, що призводить до розвитку хімічного оксидативного стресу [6, 7], дасть можливість обґрунтувати подальше вивчення фізіологічно активних сполук (ФАС) цих класів в умовах інших патологій, які супроводжуються активацією процесів вільнорадикального окислення, зокрема при ішемії головного мозку.

Мета дослідження – вивчення церебропротекторної та антиоксидантної дії N-,S-вмісного похідного хіназолону – сполуки NC-224 – порівняно із церебропротектором пірацетамом на моделі ішемії головного мозку, спричиненої гострим порушенням мозкового кровообігу (ГПМК).

Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих щурах-самцях Вістар із масою тіла 170–200 г із розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», яких утримували на стандартному харчовому раціоні віварію. Усі експериментальні процедури та оперативні втручання виконували згідно з правилами біоетики.

Гостре порушення мозкового кровообігу в щурів моделювали незворотною двобічною оклюзією сонних артерій під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг) [9].

Тварин було розділено на 4 експериментальні групи по 20 тварин у кожній. Перша група – несправжньооперовані тварини, друга – тварини з ГПМК (контрольна),

третя – тварини з ГПМК, яким вводили сполуку NC-224 (25 мг/кг), четверта – тварини з ГПМК, яким вводили препарат порівняння – пірацетам (500 мг/кг). Застосовані дози відповідали ED_{30} , які було визначено експериментально та обрховано методом пробіт-аналізу, як описано в роботі [2]. Досліджувані речовини вводили внутрішньочеревинно одразу після наркозу та один раз на добу впродовж 4 (гострий період ішемії) та 18 діб (відновлювальний період). Щоденно впродовж 18 діб визначали виявлення неврологічного дефіциту за шкалою McGrow [10]. Ступінь тяжкості оцінювали за сумою балів: до 3 балів – легкий ступінь; від 3 до 7 – середній ступінь; від 7 та вище – тяжкий ступінь. Враховували парези, паралічі кінцівок, тремор, манежні рухи, птоз, положення на боку, рухомість, та – як прояв неврологічного дефіциту – тривалість утримування шурів на стрижні діаметром 15 см, що обертається зі швидкістю 3 об./хв. У певні терміни тварин виводили з експерименту декапітацією під етамінал-натрієвим наркозом. Біохімічні дослідження проводили на 4-у добу від початку експерименту.

Після вилучення мозку швидко відділяли скроневі та лобні долі, гомогенізували їх у скрапленому азоті. У гомогенаті мозку визначали вміст продуктів окислювальної модифікації протеїнів (ОМП) за рівнем альдегідних (АФГ) і карбонільних (КФГ) продуктів за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [3, 11, 12]. Для встановлення вмісту дієнових кон'югатів (ДК) та триєнкетонів (ТК) наважку гомогенату в 0,15 М КСl екстрагували в суміші гептан : ізопропанол (кінцеве розведення 1 : 40) з подальшим спектрофотометричним визначенням відповідних продуктів [4, 12]. Вміст кінцевих альдегідних продуктів ліпопереокислення оцінювали за тестом із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [13].

Стан антиоксидантної системи в тканині мозку визначали загально прийнятими методами за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГПП) [14–16], активність NO-синтази – за швидкістю зменшення концентрації $NADPH^+$, а вміст нітратів – за реакцією Грісса [15].

Для оцінки стану біоенергетичних процесів в гомогенаті мозку визначали: вміст аденілових нуклеотидів (АТР, АDP, АМР) – методом тонкошарової хроматографії в системі діоксан : ізопропанол : вода : аміак (4 : 2 : 4 : 1) на пластинах Silufol із подальшою ідентифікацією нуклеотидів при 365 нм, метаболітів енергетичного обміну – лакта-

ту, малату, ізоцитрату, а також активності мозкового ізоензиму креатинфосфокінази (мКФК) і мітохондріальних ензимів сукцинатдегідрогенази (СДГ) та цитохром *c*-оксидази (ЦХО) [17].

Активність ензиму плазматичних мембран Na^+, K^+ -активованої, Mg^{2+} -залежної АТР-ази в гомогенатах головного мозку визначали за ступенем гальмування активності ензиму уабаїном в інкубаційному середовищі, що містило (у мМ): 100 – NaCl, 20 – KCl, 5 – $MgCl_2$, 3 – АТР- Na_2 , 50 – трис-НСl-буфера, 0,1 – уабаїну.

З метою морфологічного вивчення мозок експериментальних тварин виділяли, фіксували в рідині Буена та заливали в парафінові блоки, з яких робили серійні, фронтальні 5-мікронні гістологічні зрізи в ділянці постцентральної звивини (соматосенсорна кора). Для кожного зразка робили 10 зрізів. Для визначення морфофункціонального стану нейронів IV–V шарів кори гістологічні зрізи депарафінували за стандартною методикою та фарбували галоціанінхромовими галунами за Ейнарсоном для специфічного виявлення РНК [18, 19]. Зображення кори мозку отримували на мікроскопі Axioscop (Zeiss, Німеччина) за допомогою 8-бітної CCD камери COHU-4922 (CO Inc., США) та застосовування комп'ютерної системи аналізу зображень VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Морфометричний аналіз клітин мозку проводили в автоматичному режимі за допомогою макропрограми, яка розроблена у спеціалізованому середовищі програмування VIDAS-2,5 (кожний зріз сканували 20 разів) [19]. Визначали такі показники: щільність нейронів, гліальних клітин, апоптичних та деструктивно змінених нейронів (кількість клітин на 1 mm^2 площі зрізу кори мозку); площу тіл нейронів, апоптичних і деструктивно змінених нейронів (mkm^2); концентрацію РНК у нейронах, апоптичних і деструктивно змінених нейронах (у.о.).

Статистичну обробку даних проводили з використанням стандартного пакету аналізу програми статистичної обробки результатів версії Microsoft Office Excel 2003. Дані представляли у вигляді вибіркового середнього значення \pm стандартна помилка середнього значення і оцінювали за критеріями Колмогорова-Смирнова (D) і Lilliefors, а також Shapiro-Wilk (W). Останнім віддавали перевагу. Як критерії згоди оцінювали також величину асиметрії та ексцесу розподілу даних. Коли неможливо було відкинути нульову гіпотезу про

статистично значущі відмінності розподілу змінних від нормального, використовували непараметричні методи аналізу даних, а в інших випадках – параметричні методи. Вірогідність відмінностей між експериментальними групами оцінювали за допомогою U-критерію Уїтні–Манна і t-критерію Стьюдента комп'ютерної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Окремі статистичні процедури й алгоритми реалізовані у вигляді спеціально написаних макросів у відповідних програмах. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $P < 0,05$ [28].

Результати та обговорення

Двобічна перев'язка загальних сонних артерій призводить до тяжких неврологічних змін у тварин: паралічі, парези, птоз з максимальними проявами на 4 добу. У групі контрольних тварин з ГПМК неврологічна симптоматика за шкалою С. Р. McGrow дорівнює 19,7 балів, що відповідає тяжкому ступеню ушкодження, тоді як у групі несправжньооперованих тварин – 0,88 (табл. 1). На 4-у добу в контролі вижило 30% тварин. Уведення шурам із ГПМК сполуки NC-224 і пірацетаму призводить до зменшення неврологічного дефіциту в тварин із ГПМК до 11,0 та 15,8 балів на 4-у добу та до 3,0 та 5,6 балів на 18-у добу відповідно. Виживаність тварин складає 60% у разі застосування NC-224 і 50% – пірацетаму (в контролі виживає 30% тварин). Тобто обидві досліджені сполуки виявляють протекторну дію – сполука NC-224 має певні переваги над пірацетамом щодо впливу на виживаність тварин, розвиток неврологічного дефіциту, швидкість оновлення неврологічного статусу тварин із двобічною перев'язкою загальних сонних артерій (табл. 1).

У табл. 2 наведено результати вивчення впливу моделювання ГПМК та введення досліджуваних фізіологічно активних сполук на показники вуглеводного обміну та продукції енергії в головному мозку щурів на 4 добу експерименту. Порушення процесів аеробного окислення та відповідно енергетичних ресурсів головного мозку в умовах ГПМК виявляється зниженням концентрації субстратів трикарбонового циклу – малату, ізоцитрату, інгібуванням активності ферментів мітохондріального електрон-транспортного ланцюга – сукцинатдегідрогенази, цитохром с-оксидази та відповідним істотним зменшенням вмісту АТР як основного продукту мітохондріальної біоенергетики, а також активності мітохондріальної креатинфосфокінази.

Таким чином, за моделювання ГПМК спостерігається гальмування процесів окислювального фосфорилування та активація компенсаторного шляху утворення АТР – гліколізу, який не забезпечує повністю потребу мозку в енергії та спричинює розвиток лактат-ацидозу. Призначення тваринам із ГПМК пірацетаму виявляє помірну енерготропну дію за рахунок активації анаеробних реакцій гліколізу, що посилює лактат-ацидоз [20–23] і, таким чином, стимулює механізми ішемічного пошкодження мозку. Разом з тим, введення тваринам із ГПМК сполуки NC-224 призводить до активації окислювального продуктування енергії в циклі Кребса та дихальному ланцюзі, про що свідчить підвищення рівня АТР, ізоцитрату та активності СДГ і мітохондріальної цитохром с-оксидази та відповідно менший рівень продукування лактату як показника анаеробного гліколізу. Таким чином, хіназолінове похідне – сполука NC-224 – забезпечує вищий рівень окислю-

Таблиця 1. Вплив сполуки NC-224 порівняно з пірацетамом на виживаність та розвиток неврологічного дефіциту в тварин із гострим порушенням мозкового кровообігу

Показник	Групи тварин				
	Термін після ГПМК	Несправжньо-оперовані тварини (n = 20)	Тварини з ГПМК (контроль) (n = 6)	Тварини з ГПМК + пірацетам (n = 10)	Тварини з ГПМК + NC-224 (n = 12)
Середній бал за шкалою С. Р. McGrow	4-а доба	0,88 ± 0,11	19,7 ± 2,15	15,8 ± 2,8	11,0 ± 1,00*
	18-а доба	0,00 ± 0,00	7,3 ± 0,77	5,6 ± 0,72	3,0 ± 0,25*
Відсоток тварин, що вижили, %	4-а доба	100	30	50	60*

Тут і в табл. 2–6 * дані вірогідні відносно контролю, $P < 0,05$

Таблиця 2. Вплив сполуки NC-224 і пірацетаму на показники продукції енергії та вуглеводного обміну в мозку щурів на 4-у добу після моделювання гострого порушення мозкового кровообігу

Показник	Групи тварин			
	Несправжньо-оперовані (n = 20)	Тварини з ГПМК (контроль) (n = 6)	Тварини з ГПМК + NC-224 (n = 12)	Тварини з ГПМК + пірацетам (n = 12)
АТФ, мкмоль/г	2,87 ± 0,07	1,10 ± 0,11	2,00 ± 0,05*	1,56 ± 0,07*
м-КФК, мкмоль/хв·мг	1,88 ± 0,02	0,611 ± 0,01	1,12 ± 0,021*	0,88 ± 0,02
Na ⁺ , K ⁺ -АТР-азна активність, мкмоль Фн/год·мг протеїну	23,3 ± 0,55	16,44 ± 0,65	20,72 ± 0,34	19,1 ± 0,21
Лактат, мкмоль/г	3,11 ± 0,08	8,11 ± 0,12	5,00 ± 0,11*	14,7 ± 0,14*
Малат, мкмоль/г	0,44 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,25 ± 0,08*	0,16 ± 0,04
Ізоцитрат, мкмоль/ г	0,51 ± 0,05	0,21 ± 0,02	0,48 ± 0,03*	0,23 ± 0,03
СДГ, мкмоль/хв·мг	7,21 ± 0,10	2,31 ± 0,15	5,12 ± 0,10*	3,25 ± 0,15
ЦХО, мкмоль/хв·мг	3,77 ± 0,10	1,00 ± 0,05	2,87 ± 0,10*	1,21 ± 0,10

вального продукування АТР в умовах ішемії та приводить до зменшення пошкоджувальної дії оксидативного стресу стосовно плазматичних мембран нейронів, про що свідчить підвищення активності Na⁺, K⁺-АТР-ази.

Останнім часом з'явилося багато робіт щодо ролі оксиду азоту та його «агресивних» цитотоксичних вільнорадикальних форм у розвитку оксидативного стресу за ГПМК [2, 20, 24–26]. У наших експериментах двобічна

Таблиця 3. Вплив сполуки NC-224 і пірацетаму на показники оксидативного стресу та антиоксидантного захисту в мозку щурів на 4-у добу ГПМК

Показник	Групи тварин			
	Несправжньо-оперовані (n = 20)	Тварини з ГПМК (контроль) (n = 6)	Тварини з ГПМК + NC-224 (n = 12)	Тварини з ГПМК + пірацетам (n = 10)
NO ₃ ⁻ , мкмоль/г протеїну	18,3 ± 1,72	51,7 ± 1,21	19,70 ± 1,33*	48,0 ± 2,2
NO-синтаза, нмоль/хв·г тканини	2,37 ± 0,52	5,77 ± 0,21	3,21 ± 0,67*	4,87 ± 0,37
Продукти ОМБ – АФГ, у.о./г протеїну	0,87 ± 0,07	5,77 ± 0,50	2,75 ± 0,50*	4,87 ± 0,70
Продукти ОМБ – КФГ, у.о./г протеїну	0,62 ± 0,07	4,21 ± 0,50	2,11 ± 0,20*	3,25 ± 0,30
СОД, у.о./хв·мг протеїну	287,4 ± 14,6	102,0 ± 7,3	257,6 ± 11,2*	120,5 ± 12,7
Каталаза, мкат/мг протеїну	7,30 ± 0,77	2,70 ± 0,31	3,80 ± 0,31	2,80 ± 0,55
ГПР, мкмоль/хв·мг протеїну	78,4 ± 3,8	31,1 ± 1,9	65,0 ± 2,1*	34,5 ± 3,1
ТК, мкмоль/г тканини	0,44 ± 0,07	1,41 ± 0,11	0,84 ± 0,05*	1,27 ± 0,07
ДК, мкмоль/г тканини	1,23 ± 0,08	2,57 ± 0,11	2,00 ± 0,11	2,42 ± 0,08
ТБК-активні продукти, мкмоль/г тканини	0,52 ± 0,07	1,37 ± 0,03	0,83 ± 0,02*	1,12 ± 0,02

перев'язка загальних сонних артерій призводить до значного (дворазового) збільшення вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту – NO_3^- та підвищення активності NO-синтази на 4-у добу експерименту, що свідчить про гіперпродукцію NO.

У дослідженнях останнього часу стверджується, що гіперпродукція NO, зумовлена активацією NMDA-рецепторів, призводить не тільки до пошкодження протеїнових структур нейрона (рецептори, іонні канали, ензими) в умовах гострого періоду ГПМК, але й бере участь в опосередкованих і відтермінованих пошкодженнях нейронів (апоптоз та ін.) [1, 3–5, 10, 12]. Така думка підтверджується й нашими дослідженнями. У тварин із ГПМК спостерігаються збільшення в корі головного мозку продуктів ОМБ – АФГ та КФГ, а також ДК, ТК і МДА. Збільшення продуктів вільнорадикальних реакцій відбувається на фоні пригнічення активності антиоксидантних ензимів СОД, каталази, ГПР (табл. 3).

В той же час, введення експериментальним щурам із ГПМК сполуки NC-224 сприяє інгібуванню різних ланок оксидативного стресу. До того ж за силою антиоксидантної дії сполука NC-224 перевершує широкоживаний нейротропний препарат пірацетам. У разі її застосування в головному мозку тварин спостерігається зниження гіперензимної синтази оксиду азоту та зменшення кількості стабільних метаболітів оксиду азоту – нітратів і нітритів. Відбувається зниження продуктів ОМБ – АФГ і КФГ, а також ТБК-активних продуктів, ТК і ДК у тканині головного мозку тварин із ГПМК. Сполука NC-224 також позитивно впливає на ензими антиоксидантного

захисту, збільшуючи їх активність порівняно з контрольною групою тварин.

У табл. 4 наведено характеристики нейронів IV–V шарів кори головного мозку щурів із ГПМК після застосування тваринам із ГПМК сполуки NC-224 та пірацетаму. Ішемія призводить до вірогідного зменшення щільності нейронів у корі головного мозку порівняно з несправжньооперованими тваринами, для яких цей показник дорівнює (1281 ± 34) клітин/ мм^2 площі зрізу кори. При цьому відмічено вірогідне зменшення площі тіл нейронів зі зниженим вмістом РНК порівняно з відповідними показниками несправжньооперованих тварин.

Перев'язка обох сонних артерій призводить також до зниження щільності гліальних клітин у корі головного мозку та супроводжується вірогідним збільшенням площі гліоцитів зі зниженим умістом РНК (табл. 5). Це свідчить про порушення функціонального стану гліоцитів при ішемічному пошкодженні мозку. У корі головного мозку щурів із ГПМК на 4-у добу ішемії збільшується кількість апоптотичних і деструктивно змінених нейронів.

Експериментальна терапія тварин із ГПМК сполукою NC-224 призводить до збільшення щільності нейронів у корі на 4-у добу ішемії. Призначення тваринам з ГПМК пірацетаму не спричинює значного нейропротекторного впливу цього препарату в гострий період церебральної патології. Пірацетам виявляє вірогідну нейропротекторну дію тільки на 18-у добу досліджень.

У пізніший термін ішемії мозку (18-а доба) сполука NC-224 сприяє збільшенню щільності нейронів порівняно з групою контрольних і тваринами з ГПМК та підвищенню вмісту

Таблиця 4. Морфологічні характеристики нейронів IV–V шарів кори головного мозку щурів з експериментальною ішемією під впливом NC-224 та пірацетаму

Показник	Групи тварин				
	Термін після ГПМК	Несправжньо-оперовані тварини (n = 70)	Тварини з ГПМК (контроль) (n = 50)	Тварини з ГПМК + пірацетам (n = 70)	Тварини з ГПМК + NC-224 (n = 100)
Щільність нейронів, клітин/ мм^2	4-а доба	1281 ± 34	1065 ± 27	1060 ± 38	$1108 \pm 21^*$
	18-а доба	1292 ± 31	1082 ± 19	$1163 \pm 26^*$	$1233 \pm 28^*$
Площа тіл нейронів, мкм^2	4-а доба	$75,21 \pm 1,12$	$63,15 \pm 0,90$	$63,46 \pm 0,80$	$69,97 \pm 0,80$
	18-а доба	$74,87 \pm 1,32$	$63,12 \pm 0,80$	$68,71 \pm 0,93^*$	$72,12 \pm 0,90^*$
Вміст РНК у нейронах, у.о.	4-а доба	$9,69 \pm 0,15$	$5,40 \pm 0,20$	$5,73 \pm 0,18$	$6,87 \pm 0,15^*$
	18-а доба	$9,72 \pm 0,14$	$5,50 \pm 0,60$	$8,03 \pm 0,23^*$	$8,91 \pm 0,21^*$

Таблиця 5. Характеристика гліоцитів IV–V шарів кори головного мозку щурів з експериментальною ішемією після застосування сполуки NC-224 і пірацетаму

Показник	Групи тварин				
	Термін після ГПМК	Несправжньо-оперовані тварини (n = 70)	Тварини з ГПМК (контроль) (n = 50)	Тварини з ГПМК + пірацетам (n = 70)	Тварини з ГПМК + NC-224 (n = 100)
Щільність гліальних клітин, клітин/мм ²	4-а доба	418 ± 21	396 ± 11	407 ± 19*	417 ± 12*
	18-а доба	421 ± 14	410 ± 11	435 ± 14*	507 ± 15*
Площа тіл гліальних клітин, мкм ²	4-а доба	20,50 ± 0,19	21,20 ± 0,11	21,70 ± 0,28	22,10 ± 0,11*
	18-а доба	20,70 ± 0,24	21,80 ± 0,17	22,30 ± 0,18*	23,80 ± 0,10*
Вміст РНК у гліальних клітинах, у.о.	4-а доба	3,34 ± 0,07	1,05 ± 0,02	1,25 ± 0,02*	2,07 ± 0,03*
	18-а доба	3,31 ± 0,05	1,03 ± 0,02	1,89 ± 0,03*	2,77 ± 0,04*

РНК на рівні пірацетаму або вищому. Сполука NC-224 вірогідно знижує кількість деструктивно й апоптично змінених нейронів у корі головного мозку щурів із ГПМК як на 4-у, так і на 18-у добу після операції. Кількість апоптичних та деструктивно змінених нейронів у разі введення пірацетаму тваринам із ГПМК є таким самим, як у групі контрольних і тварин з ГПМК в гострий період ішемії (4-а доба), але у пізніший термін (18-а доба) лікарський препарат пірацетам вірогідно знижує відсоток апоптичних нейронів, призводить до підвищення функціональної активності нейронів. Тобто пірацетам у гострому періоді мозкового інсульту не чинить нейропротекторну дію, впливає тільки на анаеробне окислення, посилює стан лактат-ацидозу і, таким чином, погіршує загальний стан мозку, що підтверджують результати біохімічних досліджень [20, 24].

У відновлювальний період ГПМК сполука NC-224 і пірацетам збільшують

щільність нейронів і гліальних клітин, що супроводжується збільшенням загальної щільності клітин відносно контролю, та знижують відсоток апоптичних нейронів. Отже, у відновлювальному періоді ГПМК церебропротекторна дія сполуки NC-224 виявляється на рівні або перевищує пірацетам.

Таким чином, на моделі гострого порушення мозкового кровообігу, спричиненого двобічною перев'язкою загальних сонних артерій у щурів, встановлено наявність церебропротекторної активності у N-,S-вмісного похідного хіназолону – сполуки NC-224. З огляду на результати наших досліджень, можна вважати, що церебропротекторна дія сполуки NC-224 є спрямованою на збереження морфо-функціональних показників нейронів та зменшення ступеня їх ішемічної загибелі за рахунок протидії в умовах гострої ішемії порушенням енергетичного обміну, що виникають внаслідок розвитку оксидативного та нітрозуючого стресу.

Таблиця 6. Щільність апоптичних і деструктивно змінених клітин у IV–V шарах кори головного мозку щурів з експериментальною ішемією за застосування сполуки NC-224 і пірацетаму

Показник	Групи тварин				
	Термін після ГПМК	Несправжньо-оперовані тварини (n = 70)	Тварини з ГПМК (контроль) (n = 50)	Тварини з ГПМК + пірацетам (n = 70)	Тварини з ГПМК + NC-224 (n = 100)
Щільність клітин, клітини/мм ²	4-а доба	52 ± 9	394 ± 18	438 ± 29*	157 ± 17*
	18-а доба	53 ± 7	287 ± 18	153 ± 18*	117 ± 12*
Відносна кількість апоптичних і деструктивно змінених клітин, %	4-а доба	2,5 ± 0,1	18,45 ± 0,80	16,3 ± 1,7	8,7 ± 0,4*
	18-а доба	2,8 ± 0,2	14,36 ± 0,70	7,4 ± 0,5*	5,3 ± 0,4*

Первинні біохімічні механізми церебропротекторної активності хіназолнового похідного сполуки NC-224, зумовлені, на нашу думку, нормалізацією під впливом цієї ФАС тіолдисульфідної рівноваги в нейронах та обмеженням гіперпродукції NO та його цитотоксичних дериватів [2]. Саме наявність у структурі молекули цієї ФАС тіольної групи може робити NC-224 ефективним скевенджером вільнорадикальних метаболітів кисню та азоту [2, 6]. З іншого боку, здатність сполуки NC-224 обмежувати NO-залежну модифікацію протеїнових макромолекул за рахунок впливу на активність тіолдисульфідних перетворень зумовлює здатність цієї речовини протидіяти в умовах ішемії головного мозку дисфункції мітохондрій, розвитку енергетичного дефіциту та накопичення в мітохондріях АФК і експресії проапоптотичних факторів відповідно [2, 8]. Така гіпотеза відповідає сучасній концепції нейротоксичності/нейропротекції, згідно з якою співвідношення оксиду азоту та системи відновлених тіолів є біохімічним фактором, що визначає подальшу долю нейронів в умовах ішемії.

Наші дослідження підтверджують уявлення про розвиток у ранні строки ішемічних ушкоджень головного мозку нітрозуючого стресу, який за рахунок порушення тіолдисульфідної рівноваги протеїнів, що регулюють функціонування мітохондріальних пор, відкриває можливості для виходу в цитозоль цитохрому *c* та інших проапоптотичних протеїнів. У разі нездатності антиоксидантних систем нейронів утилізувати надлишок NO, стимуляції реакцій оксидативного та нітрозуючого стресу і формування стійкої мітохондріальної дисфункції відбувається розвиток трансмітерного аутокоїдозу, порушення нормальної фізіологічної відповіді геному нейронів на вільнорадикальне пошкодження та включаються процеси загибелі клітини [1, 2, 5, 7]. З огляду на вищенаведене, застосування тіольних скевенджерів NO

та модуляторів активності різних ізоензимів NOS, що регулюють синтез оксидів азоту або нейтралізують їх цитотоксичну дію, можна вважати перспективним напрямом біохімічної фармакології – пошуку сучасних ефективних лікарських засобів нейропротекторної дії. Одержані в роботі наукові дані стали основою патенту на корисну модель [27].

АНТИОКСИДАНТНОЕ И ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ N-, S-СОДЕРЖАЩЕГО ПРОИЗВОДНОГО ХИНАЗОЛОНА ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

*Ю. И. Губский¹, И. Ф. Беленичев²,
С. И. Коваленко², А. Г. Горюшко¹,
Н. В. Бухтиярова², Н. В. Литвинова¹,
В. С. Никитин², С. В. Павлов²,
Л. П. Бабенко¹*

¹ГУ «Институт фармакологии и токсикологии
НАМН Украины», Киев;

²Запорожский государственный
медицинский университет, Украина;
e-mail: agog@i.ua

На модели острого нарушения мозгового кровообращения у крыс установлено антиоксидантное и церебропротекторное действие нового N-,S-содержащего производного хиназолон — соединения NC-224. При его введении происходит коррекция патобиохимических нарушений в системе «ПОЛ — антиоксиданты», показателей углеводного обмена и энергообеспечения, улучшается морфо-функциональное состояние клеток головного мозга. Введение соединения NC-224 крысам способствует уменьшению показателя летальности и проявлений неврологического дефицита у опытных животных.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, антиоксидант, церебропротекторное действие, хиназолон, пирацетам.

**ANTIOXIDANT AND
CEREBROPROTECTIVE ACTION OF
N-,S-CHINAZOLONE DERIVATIVE
UNDER RAT BRAIN ISCHEMIA**

*Yu. I. Gubsky¹, I. F. Belenichev²,
C. I. Kovalenko², G. G. Goryushko¹,
N. V. Buhtiyarova², N. V. Litvinova¹,
V. C. Nikitin², C. V. Pavlov², L. P. Babenko¹*

¹SI Institute of Pharmacology and Toxicology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;

²Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine;
e-mail: agor@i.ua

S u m m a r y

Under modelling of brain ischemia in rats the antioxidant and cerebroprotective action of new N-,S-chinazolone derivative – compound NC-224 has been established. The compensation of pathobiochemical abnormalities in the system “LPO-antioxidant protection” is observed, indicators of carbohydrate metabolism and energy-supply, and morpho-functional status of brain cells are improved under administration of the compound NC-224. Administration of the compound NC-224 to rats promoted a decrease of the lethality index and signs of neurological deficiency.

Key words: headbrain ischemia, antioxidant, cerebroprotective action, chinazolone, pyracetam.

1. *Болдырев А. А., Куклей М. Л. // Нейрохирургия. – 1996. – 13. – С. 271–278.*
2. *Беленичев И. Ф., Черний В. И., Колесник Ю. М. Рациональная нейропротекция. – Донецк: Изд. Дом Заславского, 2009. – 278 с.*
3. *Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.*
4. *Дубкіна О. Ю. // Мед. хімія. – 2001. – 3, № 2. – С. 43–45.*
5. *Дунаев В. В., Губський Ю. И., Беленичев И. Ф. и др. // Совр. пробл. токсикологии. – 2004. – № 1. – С. 7–14.*
6. *Губський Ю. І., Горюшко Г. Г., Беленічев І. Ф. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2010. – 82, № 6. – С. 93–99.*
7. *Губський Ю. І., Беленічев І. Ф., Горюшко Г. Г. та ін. // Журн. АМН України. – 2010. – 16, № 4. – С. 691–700.*
8. *Моргунова С. А., Беленичев И. Ф., Павлов С. В. и др. // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2009. – 5, № 1–2. – С. 103–107.*
9. *Беленічев І. Ф., Бухтіярова Н. В., Громов Л. О. // Ліки. – 2006. – № 3, 4. – С. 11–19.*
10. *McGrow C. P. // Arch. Neurol. – 1977. – 34, N 6. – P. 334–336.*
11. *Chiueh C. The neurobiology of NO and OH. – N.Y.: Acad. Sci., 1994. – 265 p.*
12. *Halliwell B., Gutteridge J. M. Free radicals in biology and medicine. – Oxford: Clarendon Press, 1985. – 346 p.*
13. *Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кушкун А. А. // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–46.*
14. *Королюк М. А. // Там же. – № 1. – С. 16–19.*
15. *Коган В. С., Орлов О. Н., Прилипко Л. Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. – М.: Медицина, 1988. – 287 с.*
16. *Хижняк А. А., Курсов С. В. // Біль, знеболювання, інтенсивна терапія. – 2003. – № 1. – С. 43–46.*
17. *Поварова О. В., Городецкая Е. И., Медведев О. С. // Эксперим. и клин. фармакология. – 2003. – 66, № 3. – С. 69–73.*
18. *Пирс Э. Гистохимия. Москва, 1962. – 962 с.*
19. *Halliwell B. Molecular Biology of free Radicals in Human Diseases. – London: St. Lucia: OICA, 1999. – 410 p.*
20. *Беленічев І. Ф., Левицький Є. Л., Губський Ю. І. // Совр. пробл. токсикол. – 2003. – № 2. – С. 32–38.*
21. *Горбунов Н. В. // Бюл. exper. биологии и медицины. – 1995. – № 7. – С. 40–48.*
22. *Турпаев К. Т. // Биохимия. – 2002. – 67, № 3. – С. 339 – 352.*
23. *Чевари С., Чаба И., Сеней Й. // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 678–681.*
24. *Болдырев А. А. // Усп. физиол. наук. – 2003. – 34, № 3. – С. 21–34.*
25. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Пер. с англ. – М: Высшая школа, 1991. – 399 с.*
26. *Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.*
27. *Пат. України № 64800А61Л31/33 (2006.01) 2-(Морфолін-4-іл)хіназолін-4(3Н)-тіону, що проявляє нейропротекторну активність / Губський Ю. І., Беленічев І. Ф., Коваленко С. І., Нікітін В. О., Горюшко Г. Г., Посилкіна Ю. Ю., Павлов С. В., Бухтіярова Н. В., Бабенко Л. П., Величко О. М. – Опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22.*
28. *Ашмарин И. П., Васильев И. Н. Быстрый метод статистической обработки и планирование экспериментов. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1975. – 78 с.*

Отримано 30.11.2011