

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-12-31-37

ИЗУЧЕНИЕ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ И КАРБАМАЗЕПИНА ФЕНОЗАНОВОЙ КИСЛОТОЙ С АНАЛИЗОМ НЕЙРОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

А. А. Яковлева^{1,*}, С. А. Литвинова¹, Т. А. Воронина¹,
Д. М. Ивашова¹, К. А. Касабов^{1,2}, Е. Е. Гущина³,
С. В. Морозов³, В. С. Кудрин¹

Установлено, что фенозановая кислота, являющаяся действующим началом препарата “Дибуфелон” и обладающая антиоксидантной активностью, усиливает противосудорожное действие классических противосудорожных лекарственных средств – вальпроевой кислоты и карбамазепина. В тесте антагонизма с максимальным электрошоком фенозановая кислота обладает противосудорожным действием в диапазоне доз 120 – 320 мг/кг. При введении фенозановой кислоты и вальпроевой кислоты в неэффективных дозах (80 и 100 мг/кг соответственно) наблюдается появление противосудорожного эффекта. Фенозановая кислота в дозах, в которых это фармакологическое вещество оказывает противосудорожный эффект (120, 160 и 240 мг/кг), усиливает эффективность вальпроевой кислоты (100 и 150 мг/кг), что наблюдается по ослаблению тяжести судорожных проявлений (максимально в 2,3 раза по баллам) и устранению тонической экстензии конечностей. Наиболее выраженное потенцирующее действие фенозановой кислоты (160 мг/кг) выявляется в отношении эффекта карбамазепина (6,5 и 10 мг/кг): в данных комбинациях тяжесть судорожных реакций ослабевает (максимально в 4,5 раза по баллам) и отмечается полная защита от развития тонических судорог и генерализованных клонических реакций. Нейрохимический анализ показал, что фенозановая кислота повышает сниженные при МЭШ-индуцированных судорогах уровни тормозных аминокислот таурина и глицина в гипоталамусе и гиппокампе, а вальпроевая кислота увеличивает уровни ГАМК в гипоталамусе, восстанавливая баланс ГАМК/глутамат. Таким образом, фенозановая кислота, обладая противосудорожными свойствами, при фармакодинамическом взаимодействии с вальпроевой кислотой и карбамазепином потенцирует их противосудорожные эффекты.

Ключевые слова: фенозановая кислота; судороги; максимальный электрошок; вальпроевая кислота; карбамазепин; эпилепсия; нейромедиаторные аминокислоты.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, эпилепсия является одним из наиболее распространённых заболеваний ЦНС, которым страдает более 70 млн человек в мире [17]. Благодаря успешному применению широкого спектра противосудорожных лекарственных средств (ЛС) в настоящее время стало возможным повышение качества жизни пациентов, достигаемое путем снижения частоты приступов и увеличения межприступного интервала. Патогенез эпилепсии включает в себя множество про-

цессов, среди которых нарушение баланса тормозных и возбуждающих аминокислот, дисфункции вольтаж-зависимых Na^+ - и Ca^{2+} -каналов, структурные изменения нервной ткани, дисбаланс цитокиновой системы и др. [1, 15, 16]. Большое значение имеют нарушения при судорогах энергетических процессов в нейронах, усиление перекисного окисления липидов с образованием активных форм кислорода. Развивающиеся изменения, прогрессирующие вследствие судорожных приступов, обуславливают необходимость подбора рациональных комбинаций противосудорожных ЛС с препаратами, обладающими нейропротективными и антиоксидантными свойствами. Подобные комбинации препаратов на примере мексидола (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат) уже показали свою эффективность [4].

Фенозановая кислота (3-(4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутилфенил)-пропионовая кислота) — синтетический

¹ ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

³ ООО “ПИК-ФАРМА”, Россия, 125047, Москва, Оружейный пер., д. 25, стр. 1, пом. I, эт. 1.

* e-mail: alpeta11@yandex.ru

антиоксидант из класса пространственно-затрудненных фенолов, зарегистрирована в 2019 г. под торговым наименованием “Дибуфелон” в качестве противозPILEПТИЧЕСКОГО ЛС (РУ № Л-005332). Значительная антиоксидантная активность у ряда пространственно-затрудненных фенолов была выявлена еще в 1970-е гг. в Институте химической физики имени Н. Н. Семёнова РАН. В механизме действия фенозановой кислоты установлена ее способность тормозить процессы перекисного окисления липидов и стабилизировать их состав в клеточных мембранах головного мозга. В клинической практике дибуфелон рекомендуется для использования в комбинациях с базисными противосудорожными ЛС, что обуславливает необходимость изучения фармакодинамического взаимодействия фенозановой кислоты с наиболее широко применяемыми противозPILEПТИЧЕСКИМИ ЛС.

Целью настоящего исследования явилось изучение противосудорожных эффектов фенозановой кислоты, ее фармакодинамического взаимодействия с вальпроевой кислотой и карбамазепином в тесте максимального электрошока (МЭШ), а также ее нейрохимического компонента действия (влияние на уровень нейромедиаторных аминокислот).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте были использованы белые беспородные мыши-самцы, массой 20 – 26 г, полученные из питомника “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ (Московская область) ФМБА России. Животные содержались в соответствии с межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014 и Руководством по содержанию и уходу за лабораторными животными. Организация и проведение работ осуществлены в соответствии с международными стандартами (Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) и одобрены Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” (Протокол комиссии № 5 от 5 апреля 2021 г.).

Лекарственные средства, дозы, способ введения

В эксперименте использованы фенозановая кислота (активная фармацевтическая субстанция препарата “Дибуфелон” (ООО “ПИК-ФАРМА”, Россия)), вальпроевая кислота (Sigma-Aldrich) и карбамазепин (Sigma-Aldrich).

Дозы фенозановой кислоты рассчитывались на основании клинически эффективных доз с использованием межвидового коэффициента пересчета. Фенозановую кислоту применяли в дозах: 80, 120, 160, 240 и 320 мг/кг, рабочие растворы которых готовили с предварительным растиранием в ступке с добавлением

твин-80 и эквивалентных объемов физиологического раствора из расчета на каждые 10 г мыши по 0,1 мл готового раствора. Вальпроевую кислоту в дозах 100, 150, 200 и 300 мг/кг и карбамазепин в дозах 6,5, 10 и 20 мг/кг растворяли по аналогичной схеме. Готовые рабочие растворы вводили внутривентрикулярно, однократно при помощи специального зонда за 40 мин до проведения максимального электрошока (МЭШ). Контрольные животные получали физиологический раствор с добавлением твин-80 в эквивалентном объеме.

Тест максимального электрошока (МЭШ)

МЭШ вызывает развитие генерализованных тонико-клонических судорожных приступов [5]. Тест МЭШ проводили с помощью установки Rodent Shocker RS 221 (Harvard Apparatus, GmbH). Электростимуляция осуществлялась разрядом тока с заданными параметрами (50 Н, 250 В, 11 – 12 мА, продолжительность 0,3 с) при помощи специальных роговичных электродов, наложенных на глазные яблоки мышей. В результате у животных развивались генерализованные тонико-клонические судорожные приступы, для оценки которых использовали балльную систему выраженности судорог: 0 — отсутствие реакций, 1 — клонус без потери рефлекса переворачивания, 2 — клонус с потерей рефлекса переворачивания, 2,5 — тонус передних/клонус задних конечностей (неполный тонус), 3 — тонические судороги передних и задних конечностей (полный тонус), 4 — тоническая экстензия конечностей с гибелью.

Дизайн исследования

В 1 серии экспериментов (исследование противосудорожных свойств) животные были разделены на 9 групп: **1** — контрольная группа с МЭШ; **2, 3, 4, 5, 6** — фенозановая кислота в дозах 80, 120, 160, 240 и 320 мг/кг соответственно; **7 и 8** — вальпроевая кислота в дозах 200 и 300 мг/кг; **9** — карбамазепин в дозе 20 мг/кг.

Во 2 серии экспериментов (изучение фармакодинамического взаимодействия с вальпроевой кислотой) животные были разделены на 11 групп: **1** — контрольная группа с МЭШ; **2** — вальпроевая кислота 100 мг/кг + фенозановая кислота 80 мг/кг; **3** — вальпроевая кислота 100 мг/кг + фенозановая кислота 120 мг/кг; **4** — вальпроевая кислота 100 мг/кг + фенозановая кислота 240 мг/кг; **5** — вальпроевая кислота 100 мг/кг; **6** — фенозановая кислота 80 мг/кг; **7** — фенозановая кислота 120 мг/кг; **8** — фенозановая кислота 240 мг/кг; **9** — вальпроевая кислота 150 мг/кг + фенозановая кислота 160 мг/кг; **10** — вальпроевая кислота 150 мг/кг; **11** — фенозановая кислота 160 мг/кг.

В 3 серии экспериментов (изучение фармакодинамического — взаимодействия с карбамазепином) животные были разделены на 6 групп: **1** — контрольная группа с МЭШ; **2** — карбамазепин 6,5 мг/кг + фенозановая кислота 160 мг/кг; **3** — карбамазепин 10 мг/кг + фенозановая кислота 160 мг/кг; **4** — карба-

мазепин 6,5 мг/кг; **5** — карбамазепин 10 мг/кг; **6** — фенозановая кислота 160 мг/кг.

Нейрохимическое исследование

Животных декапитировали через 5 мин после предъявления МЭШ. После чего структуры головного мозга (ГМ) — фронтальная кора (ФК), гипоталамус (ГПТ), полосатое тело (ПТ) и гиппокамп (ГПК) были извлечены на льду и заморожены в жидком азоте и взвешены. Далее проводили определение содержания нейромедиаторов в пробах. Выделенные структуры ГМ мышей измельчали в гомогенизаторе “стекло — тефлон” (0,2 мм) при скорости вращения пестика 3000 об/мин. Гомогенизацию осуществляли в 0,1 н. HClO₄. Определение содержания тормозных (ГАМК, глицин, таурин) и возбуждающих (аспарат, глутамат) нейромедиаторных аминокислот в плазме крови проводили методом ВЭЖХ/ФД согласно модифицированной методике [10]. Перед анализом ткань гомогенизировали в 1 мл 0,1 н. HClO₄ замороженные в жидком азоте и взвешенные биологические пробы в 5 мл-гомогенизаторе тефлон — стекло. Затем образцы центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 мин. К 0,025 мл супернатанта добавляли 0,05 мл 0,1 н. NaOH, и 0,025 мл ортофталевого реагента для запуска реакции дериватизации. Через 20 мин 20 мкл полученного деривата подвергали хроматографическому разделению. ГАМК, аспарат, глутамат, таурин, глицин в начальной концентрации 0,1 мкМ в 0,1 н. HClO₄ использовали в качестве стандартной смеси для калибровки. Регистрацию продуктов разделения проводили на хроматографе с флуоресцентным детектором Agilent 1100 (США) с аналитической колонкой HYPERSIL ODS (4,6 × 250 мм, 5 мкм) (длина волны возбуждения — 230 нм, длина волны испускания — 392 нм). Подвижная фаза для определения нейромедиаторных аминокислот состояла из 0,06 М NaH₂PO₄ · H₂O, 0,0032 М Na₂HPO₄, 0,025 мМ ЭДТА, и 1,24 мМ CH₃OH, pH 5,6.

Скорость подвижной фазы составляла 1,5 мл/мин. Регистрация образцов проводилась с применением аппаратно-программного комплекса Agilent ChemStation v. B.04.02.

Животные были разделены на 6 групп: **1** — контрольная группа без МЭШ; **2** — контрольная группа с МЭШ; **3** — вальпроевая кислота 200 мг/кг; **4** — фенозановая кислота 160 мг/кг; **5** — вальпроевая кислота 200 мг/кг с МЭШ; **6** — фенозановая кислота 160 мг/кг с МЭШ.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10. Нормальность распределения данных оценивали с помощью критериев χ^2 Пирсона и Шапиро — Уилка. Гомогенность дисперсии проверяли по Фишеру. Для сравнения использовали однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой с помощью метода Крускала — Уоллиса с переходом на множественные сравнения по Данну. Долевые изменения количественных показателей оценивали с помощью критерия точной вероятности Фишера. Приведены средние значения и стандартные ошибки среднего ($M \pm s.e.m.$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Противосудорожное действие фенозановой кислоты и препаратов сравнения в тесте МЭШ

В контрольных группах животных, получавших однократно физиологический раствор, МЭШ вызывал развитие тонико-клонических судорожных припадков, тяжесть которых определялась появлением фазы тонической экстензии конечностей и составляла в среднем 3 балла. В различных сериях контрольных групп доля мышей с тонической экстензией составляла 80 – 100 %, в объединенном контроле (в среднем) — 93 % (табл. 1).

Фенозановая кислота оказывала выраженный дозозависимый противосудорожный эффект в тесте МЭШ в диапазоне доз от 120 до 320 мг/кг: тяжесть судорож-

Таблица 1. Влияние фенозановой кислоты (ФНК), вальпроевой кислоты (ВК) и карбамазепина (КБ) на судороги, вызванные максимальным электрошоком (МЭШ)

Группа животных	Количество мышей в группе	Доза, мг/кг/внутри	Выраженность судорожных реакций (в баллах)	Количество животных с тонической экстензией конечностей (%)
Контроль МЭШ	61	-	3,03 ± 0,05	93
ФНК	33	80	2,32 ± 0,15	42 ^S
	8	120	2,06 ± 0,38*	37,5 ^S
	32	160	2,02 ± 0,12**	28 ^S
	18	240	1,75 ± 0,16**	17 ^S
	8	320	1,38 ± 0,26**	12,5 ^S
ВК	26	200	1,87 ± 0,19**	19 ^S
	8	300	0,75 ± 0,16**	0 ^S
КБ	14	20	0,79 ± 0,19**	0 ^S

* — достоверность отличий относительно группы контроля с МЭШ, при $p \leq 0,05$ и ** — при $p \leq 0,01$ (критерий Крускала — Уоллиса); ^S — достоверность отличий относительно группы контроля с МЭШ, при $p \leq 0,01$ (точный критерий Фишера).

Таблица 2. Влияние фенозановой кислоты (ФНК) на выраженность противосудорожных эффектов вальпроевой кислоты (ВК в дозе 100 мг/кг) в тесте МЭШ

Группа животных, дозы мг/кг	Количество мышей в группе	Выраженность судорожных реакций (в баллах)	Количество животных с тонической экстензией конечностей (%)
Контроль МЭШ	18	3,11 ± 0,11	94
ВК100 + ФНК 80	10	2,55 ± 0,16*	60 [§]
ВК100 + ФНК 120	8	1,56 ± 0,22**@	12,5 [§]
ВК100 + ФНК 240	9	1,39 ± 0,16**@	0 [§]
ФНК 80	10	2,60 ± 0,22	70
ФНК 120	8	2,06 ± 0,38**	37,5 [§]
ФНК 240	10	1,55 ± 0,22**	10 [§]
ВК 100	18	2,72 ± 0,19	78

* — достоверность отличий относительно группы контроля с МЭШ, при $p \leq 0,05$ и ** — при $p \leq 0,01$ (критерий Крускала — Уоллиса); @ — достоверность отличий от группы “ВК 100”, при $p \leq 0,01$ (критерий Крускала — Уоллиса); [§] — достоверность отличий относительно группы контроля с МЭШ, при $p \leq 0,01$ (точный критерий Фишера).

ных реакций снижалась за счет ингибирования фазы тонической экстензии, при этом в дозах 240 и 320 мг/кг отмечался максимальный эффект (доля животных с экстензией конечностей снижалась на 76 и 80,5 % соответственно) (табл. 1).

Вальпроевая кислота в дозе 200 мг/кг снижала тяжесть МЭШ-индуцированных судорожных реакций (до 1,87 балла) и на 74 % — количество мышей с тонической экстензией конечностей. В дозе 300 мг/кг это ЛС практически полностью устраняло судорожные проявления, оставались лишь начальные эпизоды в виде клонических одиночных подергиваний (табл. 1).

Карбамазепин в дозе 20 мг/кг полностью защищал животных от развития тонических судорог и снижал тяжесть клонических генерализованных проявлений (табл. 1).

При изучении комбинаций исследуемых ЛС отмечали усиление их противосудорожного действия. Так, в группе мышей, получавших вальпроевую кислоту в неэффективной дозе (100 мг/кг), отмечалось незначительное снижение числа животных с тонической экстензией (на 16 %), тогда как в комбинациях с феноза-

новой кислотой в дозах 80, 120 и 240 мг/кг наблюдалось более выраженное уменьшение количества животных с тонической экстензией конечностей на 34, 81,5 и 94 % соответственно (табл. 2).

Противосудорожное действие вводимых отдельно вальпроевой кислоты в дозе 150 мг/кг и фенозановой кислоты в дозе 160 мг/кг было сопоставимо друг с другом и составляло в среднем 2 и 2,15 балла, а при их совместном введении тяжесть судорожных реакций ослабевала до 1,3 балла. В данной комбинации значительно уменьшалось количество мышей с тоническими судорогами — на 80 %, тогда как в группах “ВК150” и “ФНК160” это снижение регистрировалось на уровне 57 и 60 % соответственно (табл. 3).

При сочетанном введении карбамазепина в дозе 6,5 мг/кг с фенозановой кислотой (160 мг/кг) степень выраженности судорожных реакций достоверно снижалась в 1,6 – 1,9 раза, что превосходило эффекты в

Таблица 3. Влияние фенозановой кислоты (ФНК) на выраженность противосудорожных эффектов вальпроевой кислоты (ВК в дозе 150 мг/кг) в тесте МЭШ

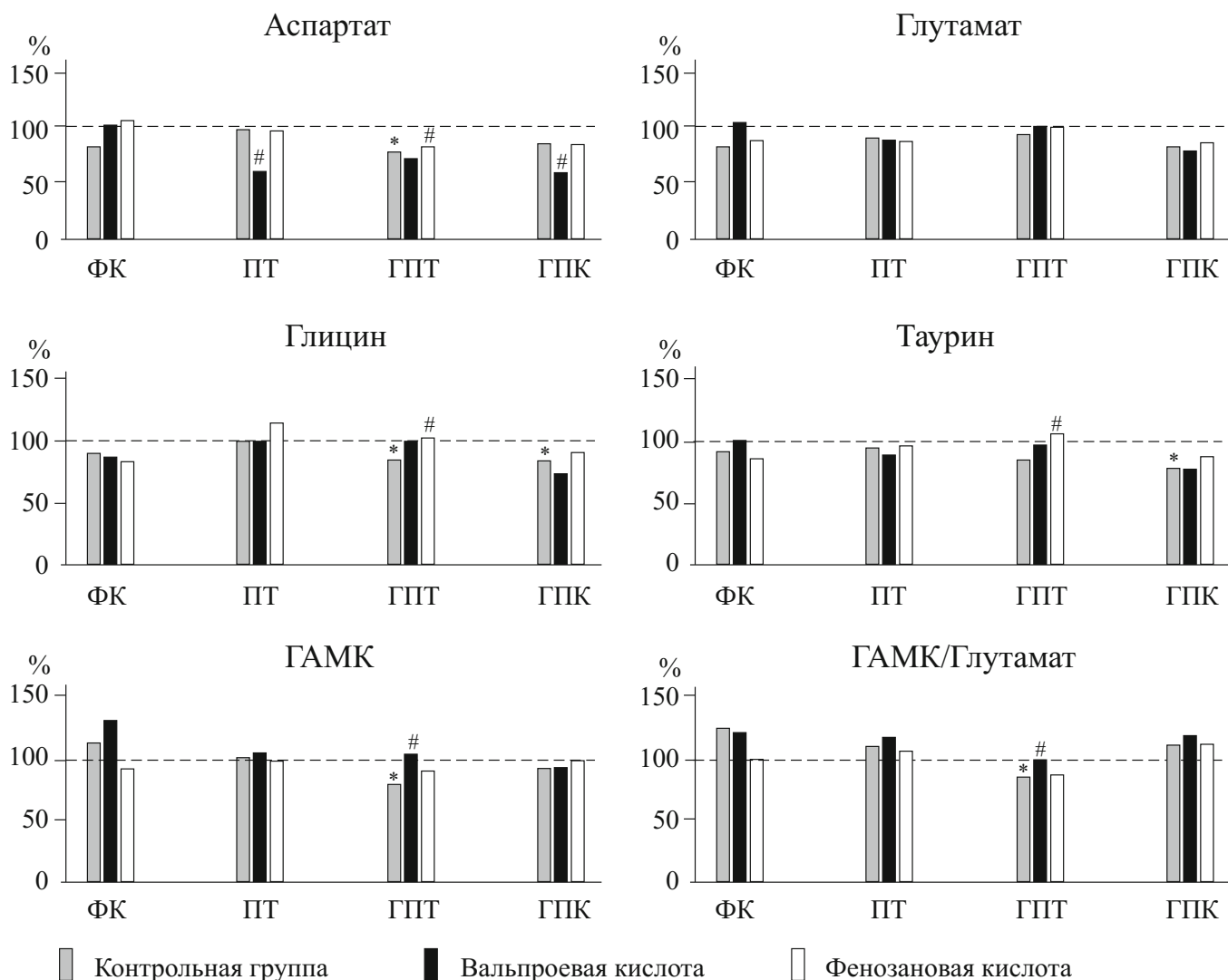
Группа животных, дозы мг/кг	Количество мышей в группе	Выраженность судорожных реакций (в баллах)	Количество животных с тонической экстензией конечностей (%)
Контроль МЭШ	10	3,00 ± 0,15	90
ВК 150 + ФНК 160	10	1,30 ± 0,33***	10 [§]
ФНК 160	18	2,08 ± 0,17**	33 [§]
ВК 150	10	2,15 ± 0,18**	30 [§]

* — достоверность отличий относительно группы контроля, при $p \leq 0,05$ и ** — при $p \leq 0,01$; *** — при $p \leq 0,001$ (критерий Крускала — Уоллиса); [§] — достоверность отличий относительно группы контроля, при $p \leq 0,01$ (точный критерий Фишера).

Таблица 4. Влияние фенозановой кислоты (ФНК) на выраженность противосудорожных эффектов карбамазепина (КБ в дозах 6,5 и 10 мг/кг) в тесте МЭШ

Группа животных, дозы мг/кг	Количество мышей в группе	Выраженность судорожных реакций (в баллах)	Количество животных с тонической экстензией конечностей (%)
Контроль МЭШ	20	3,00 ± 0,15	80
КБ 6,5 + ФНК 160	10	1,30 ± 0,26***@&	10 [§]
КБ 10 + ФНК 160	16	0,44 ± 0,13***@&	0 [§]
ФНК 160	28	2,09 ± 0,13**	28,5 [§]
КБ 6,5	10	2,50 ± 0,31*	40 [§]
КБ 10	13	2,00 ± 0,22**	31 [§]

* — достоверность отличий относительно группы контроля с МЭШ, при $p \leq 0,05$ и ** — при $p \leq 0,01$; *** — при $p \leq 0,001$ (критерий Крускала — Уоллиса); @ — достоверность отличий от группы “КБ 10” и/или “КБ 6,5”, при $p \leq 0,01$ (критерий Крускала — Уоллиса); & — достоверность отличий от группы “ФНК160”, при $p \leq 0,01$ (критерий Крускала — Уоллиса); [§] — достоверность отличий относительно группы контроля с МЭШ, при $p \leq 0,01$ (точный критерий Фишера).



Влияние фенозановой кислоты (ФНК), вальпроевой кислоты (ВК) на уровень возбуждающих и тормозных аминокислот в структурах головного мозга мышей, перенесших судороги, вызванные МЭШ.

Примечание: ФК — фронтальная кора, ПТ — полосатое тело, ГПТ — гипоталамус, ГПК — гиппокамп; * — достоверность различий по сравнению с контролем без МЭШ, при $p < 0,05$; # — достоверность различий по сравнению с группой с МЭШ, при $p < 0,05$ (t -критерий Стьюдента).

группах, получавших карбамазепин (6,5 мг/кг) и фенозановую кислоту (160 мг/кг) отдельно (табл. 4). Эффект комбинации карбамазепин (10 мг/кг) + фенозановая кислота (160 мг/кг) в 4,5 раза превосходил противосудорожные эффекты составляющих комбинацию ЛС: у 44 % мышей регистрировались лишь одиночные клонические эпизоды, а остальные 56 % не имели каких-либо судорожных реакций (табл. 4).

Влияние фенозановой кислоты на уровень возбуждающих и тормозных аминокислот в тесте МЭШ

Исследование нейрохимических параметров показало, что во ФК ГМ и ПТ контрольных мышей, перенесших МЭШ-индуцированные судороги, не отмечалось каких-либо изменений содержания нейромедиа-

торных аминокислот. В ГПТ МЭШ приводил к снижению уровней аспартата, глицина, ГАМК и соотношения “ГАМК/ глутамат”, а в ГПК отмечали уменьшение концентрации глицина, таурина и глутамата.

Фенозановая кислота (160 мг/кг) в ГПТ животных вызывала увеличение уровня тормозных аминокислот — таурина и глицина, сниженных МЭШ, и препятствовала снижению уровня аспартата. В ГПК наблюдали восстановление уровня глицина до фоновых значений (рисунок).

Вальпроевая кислота (200 мг/кг) в ГПТ противодействовала негативному воздействию МЭШ, восстанавливая содержание ГАМК и соотношение ГАМК/глутамат. При этом отмечалось достоверное снижение концентрации аспартата в ПТ и ГПК (рисунок).

Таким образом, фенозановая кислота оказывает выраженный противосудорожный дозозависимый эффект в широком диапазоне доз. Комбинированное ее применение с вальпроевой кислотой и карбамазепином потенцирует их противосудорожные эффекты, что отмечается по более выраженному защитному действию, и позволяет снизить дозы вальпроевой кислоты в 2 раза, а карбамазепина — в 3 раза.

Применение при эпилепсии ЛС с антиоксидантной и нейропротективной активностью, обладающих противосудорожными свойствами, патогенетически обоснованно и позволяет усилить эффективность лекарственной терапии. Например, изучение комбинаций широко распространенного антиоксидантного препарата мексидола с противоэпилептическими ЛС на экспериментальных моделях эпилепсии [4, 6] и в клинической практике [2, 9] показало его выраженное потенцирующее действие. Способность фенозановой кислоты потенцировать действие классических противоэпилептических ЛС была показана у пациентов с фокальной эпилепсией [3].

Механизм противосудорожного действия фенозановой кислоты обусловлен не только антиоксидантным действием и мембраномодулирующим эффектом, но также снижением активности аденилатциклазы (АЦ) и увеличением активности фермента протеинкиназы С [7, 8]. Среди 9 подтипов фермента АЦ, два — АЦ1 и АЦ8 предположительно принимают участие в эпилептогенезе, они экспрессируются в ГПК и регулируются физиологическими концентрациями Ca^{2+} , зависимыми от уровня кальмодулина [13]. Доказано влияние АЦ8 через синтез цАМФ на активацию протеинкиназы А, регулирующей активность NMDA-, AMPA-рецепторов и синаптическую передачу [18]. Фенозановая кислота снижает в 2,5 раза уровень АЦ, что опосредованно может оказывать влияние на порог судорожной активности [7]. Роль протеинкиназы С в развитии эпилепсии не до конца изучена. Однако известно, что активация этого фермента способствует снижению натриевого тока [12] и инактивации Na^+ -каналов [14], тем самым модулируя возбудимость нейронов.

В настоящем исследовании показано, что в механизме противосудорожного действия фенозановой кислоты вовлекается в большей степени ГПТ и ГПК, в которых наблюдается восстановление сниженного МЭШ уровня тормозных аминокислот — таурина и глицина. Вальпроевая кислота увеличивает уровень ГАМК и восстанавливает баланс ГАМК/глутамат в ГПТ, что подтверждается данными других авторов [11]. Можно полагать, что выявленные нейрохимические эффекты фенозановой кислоты являются одним из компонентов механизма реализации ее противосудорожного действия.

ВЫВОДЫ

1. Фенозановая кислота при внутрижелудочном введении проявляет выраженный дозозависимый проти-

восудорожный эффект в тесте МЭШ в диапазоне доз от 120 до 320 мг/кг.

2. Фенозановая кислота усиливает противосудорожное действие вальпроевой кислоты и карбамазепина в тесте МЭШ, что выражается в ослаблении тяжести судорожных проявлений — тонической экстензии и клонических генерализованных судорог с потерей рефлекса переворачивания.

3. Наиболее выраженное потенцирующее действие фенозановой кислоты выявляется в отношении эффекта карбамазепина.

4. Противосудорожный эффект фенозановой кислоты сопровождается восстановлением нарушенного МЭШ уровня тормозных аминокислот — глицина (гиппокамп, гипоталамус) и таурина (гипоталамус), тогда как вальпроевая кислота восстанавливает уровень ГАМК и показатель ГАМК/глутамат (гипоталамус).

5. Комбинация фенозановой кислоты с вальпроевой кислотой и карбамазепином позволяет существенно снизить их эффективные дозы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Н. Авакян, Т. А. Воронина, Е. А. Хромых, *Эпилепсии. Патогенез. Патогенетическая терапия*, Пособие для врачей, Москва (2007).
2. О. Л. Бадалян, Г. Н. Авакян, Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Возможности использования комбинации карбамазепина и мексидола у подростков с парциальной эпилепсией*, 2-я Восточно-Европейская конференция “Эпилепсия и клиническая нейрофизиология” (2010), сс. 189 – 190.
3. С. Г. Бурд, А. В. Лебедева, Н. В. Пантина и др., *Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, **121**(10), 52 – 59 (2021); doi: 10.17116 / jnevro20211210152
4. Т. А. Воронина, Е. А. Иванова, *Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, **119**(4), 115 – 124 (2019); doi: 10.17116 / jnevro2019119041115
5. Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ*, Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, Часть 1, ФГБУ “НЦЭСМП”, Гриф и К, Москва (2012), сс. 235 – 250.
6. К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС*, Изд-во Ин-та биомед. химии, Москва (1995).
7. Е. Л. Мальцева, Е. Б. Бурлакова, *Биол. мембраны*, **3**, 6 (1986).
8. Н. П. Пальмина, Е. Л. Мальцева, Е. И. Пынзарь, Е. Б. Бурлакова, *Рос. хим. журн.*, **43**(5), 55 – 62 (1999).
9. А. А. Савенков, О. Л. Бадалян, Г. Н. Авакян, *Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, **113**(6), 26 – 34 (2013).
10. Ю. Б. Филатова, Т. А. Воронина, Г. Н. Авакян и др., *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*, **4**(1), 29 – 33 (2012).
11. F. Bertelsen, A. M. Landau, K. H. Vase, et al., *Brain Res.*, **1680**, 110 – 114 (2018); doi: 10.1016 / j.brainres.2017.12.018
12. A. R. Cantrell, V. C. Tibbs, F. H. Yu, et al., *Mol. Cell Neurosci.*, **21**, 63 – 80 (2002); doi: 10.1006 / mncn.2002.1162
13. X. Chen, G. Dong, C. Zheng, et al., *Epilepsy Res.*, **119**, 24 – 29 (2016); doi: 10.1016 / j.eplepsyres.2015.11.007
14. S. Franceschetti, S. Taverna, G. Sancini, et al., *J. Physiol.*, **528**, 291 – 304 (2000); doi: 10.1111 / j.1469-7793.2000.00291.x
15. T. Hanada, *Biomolecules*, **10**(3), 464 (2020); doi: 10.3390 / biom10030464

16. I. Mukhtar, *Seizure*, **82**, 65 – 79 (2020); doi: 10.1016 / j.seizure.2020.09.015
17. R. Thigs, R. Surges, T. J. O'Brien, J. W. Sander, *Lancet*, **393**(10172), 689 – 701 (2019); doi:10.1016 / S0140-6736(18)32596-0
18. A. Vazquez-Lopez, G. Sierra-Paredes, G. Sierra-Marcuno, *Neurochem. Res.*, **30**, 613 – 618 (2005); doi: 10.1007 / s11064-005-2748-3

Поступила 20.05.22

STUDY OF POTENTIATION OF VALPROIC ACID AND CARBAMAZEPINE BY PHENOSANIC ACID AND ANALYSIS OF NEUROCHEMICAL PARAMETERS

A. A. Yakovleva^{1*}, S. A. Litvinova¹, T. A. Voronina¹, D. M. Ivashova¹, K. A. Kasabov^{1,2}, E. E. Gushchina³, S. V. Morozov³, and V. S. Kudrin¹

¹ Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, 125315 Russia

² First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991 Russia

³ LLC "PIQ-PHARMA", Moscow, 125047 Russia

* e-mail: alpeta11@yandex.ru

Phenosanic acid (PhA) which is an active principle of Dibufelon and has antioxidant activity, is shown to enhance the anticonvulsant effect of the classic antiepileptic drugs, i.e., valproic acid (VA) and carbamazepine. PhA exhibits an anticonvulsant effect in a wide dose range of 120 – 320 mg/kg in the maximal electroshock seizure (MES) test. An anticonvulsant effect is manifested when PhA and VA are introduced in ineffective doses (80 mg/kg and 100 mg/kg, respectively). PhA at doses that induce an anticonvulsant effect of 120, 160 and 240 mg/kg enhances the activity of VA (100 mg/kg and 150 mg/kg), which is displayed in the weakening of the severity of convulsive manifestations (maximum 2.3 times in points) and elimination of tonic limb extensions. The most pronounced potentiating effect of PhA (160 mg/kg) is revealed in relation to the carbamazepine (6 and 10 mg/kg): the severity of convulsive reactions decreases by 4.5 times (by scores on a scale) and a complete protection against the development of tonic extension and generalized clonic reactions is attained. PhA increases the levels of inhibitory amino acids (taurine and glycine) in the hypothalamus that are decreased in convulsions caused by MES. It is shown that PhA, possessing anticonvulsant properties, potentiates anticonvulsant effects of basic antiepileptic drugs in pharmacodynamic interaction with them, thus making possible to reduce therapeutic doses of antiepileptic drugs.

Keywords: phenosanic acid; seizures; maximal electroshock; valproic acid; carbamazepine; epilepsy; amino acid neurotransmitters.