

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 2074-5982 (print)

БИОМЕДИЦИНА

SCIENTIFIC JOURNAL

JOURNAL BIOMED

Том (Vol.) 17

2021

2





АКТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДИМЕТИЛАМИНОЭТАНОЛА, СОДЕРЖАЩИХ ИНТЕРМЕДИАТЫ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Е.Ю. Чистякова^{1,*}, С.В. Оковитый¹, В.Н. Юсковец¹, Д.С. Лисицкий¹, А.Б. Верведа²

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Минздрава России

197022, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

² ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

Оценена актопротекторная активность некоторых комбинированных соединений диметиламиноэтанол (ДМАЭ), содержащих интермедиаты цикла трикарбонных кислот (l-малат, α-кетоглутарат, сукцинат и фумарат). Изучено влияние курсового внутривнутрижелудочного введения фармакологических агентов в течение 4-х недель в дозировке 75 мг/кг на показатели статической, динамической выносливости и координации движений, а также прирост массы тела «тренированных» лабораторных животных в сравнении с «эталонным» актопротектором этилтиобензимидазолом (25 мг/кг внутривнутрижелудочно). Спустя 1 мес. тренировок на динамическую выносливость и координацию движений наибольшее влияние оказал ДМАЭ-малат (рост на 60%, $p=0,011$), статическую выносливость повысили на 2-й неделе — ДМАЭ-малат (на 16%, $p=0,005$) и ДМАЭ-кетоглутарат (на 15,8%, $p=0,006$), на 4-й неделе — ДМАЭ-кетоглутарат (на 19,7%, $p=0,0001$) и ДМАЭ-сукцинат (на 12,2%, $p=0,003$). Выраженный прирост массы тела наблюдался в группе, получавшей ДМАЭ-кетоглутарат (на 29%, $p=0,022$). В целом, наибольшую актопротекторную активность показали комбинированные соединения диметиламиноэтанол с α-кетоглутаратом, малатом и сукцинатом.

Ключевые слова: актопротекторы, диметиламиноэтанол, сукцинат, α-кетоглутарат, малат, фумарат

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Чистякова Е.Ю., Оковитый С.В., Юсковец В.Н., Лисицкий Д.С., Верведа А.Б. Актопротекторная активность комбинированных соединений диметиламиноэтанол, содержащих интермедиаты цикла трикарбонных кислот. *Биомедицина*. 2021;17(2): 58–70. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-2-58-70>

Поступила 27.01.2021

Принята после доработки 11.03.2021

Опубликована 10.06.2021

ACTOPROTECTIVE ACTIVITY OF DIMETHYLAMINOETHANOL COMPOUNDS COMBINED WITH INTERMEDIATES OF THE CITRIC ACID CYCLE

Elizaveta Yu. Chistyakova^{1,*}, Sergey V. Okovityi¹, Valerii N. Yuskovec¹, Dmitrii S. Lisitskii¹,
Alexey B. Verveda²

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health care of Russia
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Professora Popova Str., 14A

² Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Bekhtereva Str., 1

The article presents the results of evaluation of actoprotective activity of combined dimethylaminoethanol compounds containing intermediates of the citric acid cycle (L-malate, α -ketoglutarate, succinate and fumarate).

The effect of long-term intragastric administration of pharmacological agents for 4 weeks at a dose of 75 mg/kg on the static, dynamic endurance, motor coordination and body weight gain of "trained" laboratory animals was assessed in comparison with reference actoprotector ethylthiobenzimidazole (25 mg/kg, intragastrically). It was found that the most promising substances for further study are alpha-ketoglutarate and succinate compounds. After 1 month of training, dynamic endurance and coordination of movements were most influenced by DMAE-malate (increase by 60%, $p=0.011$), static endurance was increased during the 2nd week by DMAE-malate (by 16%, $p=0.005$) and DMAE-ketoglutarate (by 15.8%, $p=0.006$), on the 4th week – DMAE-ketoglutarate (by 19.7%, $p=0.0001$) and DMAE-succinate (by 12.2%, $p=0.003$). A pronounced body weight increase was observed in the group receiving DMAE-ketoglutarate (by 29%, $p=0.022$). In general, combined compounds of dimethylaminoethanol with alpha-ketoglutarate, malate and succinate showed the highest actoprotective activity.

Keywords: actoprotectors, dimethylaminoethanol, succinate, α -ketoglutarate, malate, fumarate

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Chistyakova E.Yu., Okovityi S.V., Yuskovec V.N., Lisitskii D.S., Verveda A.B. Actoprotective Activity of Dimethylaminoethanol Compounds Combined with Intermediates of the Citric Acid Cycle. *Journal Biomed.* 2021;17(2):58–70. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-2-58-70>

Submitted 27.01.2021

Revised 11.03.2021

Published 10.06.2021

Введение

Среди препаратов с актопротекторным действием одну из самых изученных групп составляют синтетические средства различных химических классов, а эталонным представителем является синтетический адаптоген этилтиобензимидазол [18]. Тем не менее, на сегодняшний день номенклатура современных актопротекторных средств крайне ограничена, несмотря на высокую потребность в них личного состава военных формирований, сотрудников МЧС, спортсменов, пациентов при различных астенических состояниях.

В качестве потенциальных средств с актопротекторной активностью большой интерес представляют производные аминокетанола (этанолamina), обладающие широким спектром фармакологической активности, в т. ч. в отношении умственной и физической работоспособности [6, 9]. Поскольку фармакологическая коррекция процессов умственного и физического утомления имеет ряд общих принципов, то соединения, обладающие ноотропным и антиоксидантным действием, перспективны для изучения в качестве актопротекторов [11, 16, 20].

Заметной актопротекторной активностью обладают также активаторы главного энергетического механизма клеток — цикла Кребса, к которым, в частности, относятся янтарная, яблочная, фумаровая, α -кетоглутаровая кислоты и препараты их солей [7, 15]. Соответственно, соль аминокетанольного производного с интермедиатами цикла Кребса может оказывать более выраженное действие, чем исходное основание или же чистый субстрат цикла трикарбоновых кислот, за счет поддержания энергопродукции при двигательной гипоксии.

На кафедре органической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» были синтезированы комбинированные соединения диметиламиноэтанола (ДМАЭ), содержащие интермедиаты цикла трикарбоновых кислот (фумарат, L-малат, α -кетоглутарат и сукцинат). Предварительные исследования продемонстрировали способность некоторых из них достоверно увеличивать продолжительность плавания мышей в тесте вынужденного плавания «до отказа» [6]. Также для этих соединений была установлена антигипоксическая активность [9].

Целью данного исследования стала экспериментальная оценка актопротекторной активности фумарата, L-малата, α -кетоглутарата и сукцината диметиламиноэтанола при курсовом введении на фоне тренирующих физических нагрузок.

Материалы и методы

Исследование проведено на 84 аутобредных мышах-самцах в возрасте 3-х мес. массой 20–30 г. Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская обл.). Все эксперименты выполняли в соответствии с Приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Мышей содержали в стандартных условиях вивария при температуре 18–26°C со свободным доступом к воде, пище, при двенадцатичасовом цикле день/ночь.

Для исследования животные были рандомизированы по массе тела на 7 групп по 12 особей в каждой: 1-я группа — интактная; 2-я группа получала физ. р-р (отрицательный контроль); 3-я — эталонный актопротектор этилтиобензимидазол в дозировке 25 мг/кг (положительный контроль); 4-я группа — опытная — фармакологические соединения — продукты взаимодействия ДМАЭ с интермедиатами цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) в дозировке 75 мг/кг — L-малат; α -кетоглутарат (5-я группа); сукцинат (6-я группа) и фумарат (7-я группа).

Тренирующие физические нагрузки для мышей включали ежедневный принудительный бег на беговой дорожке Treadmill («TSE Systems», Германия) в течение 1 ч при скорости движения ленты 0,2 м/с и угле наклона 15° [8]. Предварительно животных постепенно приучали к нагрузке в течение 3-х дней — бег в течение 15 мин при скорости движения ленты 0,05, 0,1 и 0,15 м/с соответственно. На основании способности к бегу на беговой дорожке проводили выбраковывание животных. Животные, у которых не выработался устойчивый навык бега, были выведены из эксперимента.

Введение фармакологических агентов осуществляли внутривентрикулярно при помощи зонда за 30 мин до начала тренировки в течение 1-го мес. Этилтиобензимидазол вводили сразу после окончания тренировки как средство восстанавливающего типа [18].

Для оценки координации движений и динамической выносливости в эксперименте использовали аппарат RotaRod («Ugo Basile», Италия), позволяющий моделировать повторяющиеся и значительные мышечные нагрузки при определённых

ной скорости движений [1]. Фиксировали время удержания животных на вращающемся стержне при скорости вращения 20 об./мин. Показатель оценивали перед началом тренировки — в первый день эксперимента (фон), а также спустя 2 и 4 недели тренировки. Если животное не падало в течение 5-ти мин, наблюдение прекращали. Для формирования навыка удержания на стержне животные были предварительно обучены (5 мин при скорости вращения 8 об./мин).

Оценку статической выносливости мышцей — способности длительное время сохранять статическое мышечное напряжение без признаков утомления — проводили с применением прибора для измерения силы хвата Grip Strength Meter («TSE Systems», Германия) [1]. Измеряли мышечную силу сжатия передних лап путём фиксации усилия, необходимого для того, чтобы животное разжало пальцы (грамм — сила) в трёх последовательных определениях. Показатель регистрировали перед началом нагрузок в первый день эксперимента (фон), а также спустя 2 и 4 недели тренировки.

Влияние тренировок на массу тела мышцей оценивали по показателю абсолютного прироста по сравнению с фоновым уровнем на 1–4-й неделях эксперимента.

Математико-статистический анализ результатов осуществляли с использованием пакетов Microsoft Excel 2013 и Statistica 10.0. Для анализа типа распределения использовали W критерий Шапиро—Уилка. Перед проведением дисперсионного анализа помимо оценки нормальности распределения осуществляли проверку выборок на равенство дисперсий с использованием критерия Левена.

В соответствии с полученными результатами анализа типа распределения осуществляли представление данных описательной статистики — меры центральной тенденции и показателей разброса.

Рассчитывали следующие описательные статистики количественных показателей — среднее арифметическое (Mean), стандартное отклонение (SD), медиана (Me), верхняя (UQ) и нижняя (LQ) квартили. Для асимметрично распределённых данных Mean и SD не приводили.

Для сравнения данных, не подчинявшихся закону нормального распределения, были рассчитаны непараметрические критерии. Для сравнения изучаемых показателей между двумя группами был использован U -тест Манна—Уитни (Mann—Whitney test). Для сравнения данных, подчинявшихся закону нормального распределения, для независимых выборок был использован t -критерий Стьюдента (t-test for independent samples), для несвязанных выборок — однофакторный дисперсионный анализ (One Way ANOVA). Если по результатам дисперсионного анализа устанавливались статистически значимые различия между всеми исследуемыми группами, проводили апостериорные сравнения с применением критериев Дуннета (оценка различий с контрольной группой) и Ньюмена—Кеулса (парное сравнение всех групп).

Перед применением t -критерия Стьюдента для независимых выборок (t-test for independent samples) помимо анализа нормальности распределения проводили проверку однородности дисперсий с использованием критерия Левена. В случае установления неоднородности дисперсий применяли t -критерий с раздельными оценками дисперсий и приближённым числом степеней свободы, а для оценки значимости различий — скорректированный p -уровень (p -двуст.).

В ходе исследования межгрупповых различий количественных данных проводили их оценку по отношению к базовому уровню и рассчитывали относительную величину сравнения (ОВС). При этом интервальные количественные данные преобразовывали в относительные количественные

венные данные. Для такого преобразования использовали следующую формулу:

$$OBC = [(A_1 - A_0) / A_0] \times 100\%,$$

где A_0 — значение признака в базовой группе, A_1 — значение признака в исследуемой группе.

Если результат такого преобразования являлся отрицательным числом, то знак минус опускали и констатировали более низкое значение исследуемого параметра. Если результат являлся положительным числом, то говорили о более высоком значении параметра. В качестве базовой группы в зависимости от решаемых задач выступали: интактная группа (при сравнении с контрольной), контрольная группа (при сравнении со всеми препаратами) и препарат сравнения этилтиобензимидазол (при сравнении с исследуемыми препаратами). Величина ошибки для подтверждения нулевой гипотезы была принята больше 0,05 (при $p < 0,05$ нулевую гипотезу отклоняли, а при $p > 0,05$ — принимали).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования было установлено, что на 2-й и 4-й неделях регулярных физических нагрузок вре-

мя удержания мышей на аппарате RotaRod в контрольной группе было достоверно больше, чем в интактной группе, соответственно, в среднем на 58% ($p=0,009$) и на 131% ($p=0,005$) по медиане (табл. 1).

Изучение влияния тренировок на показатели статической выносливости животных показало, что на 2-й и 4-й неделях сила хвата в контрольной группе была достоверно больше по медиане, чем в интактной группе, соответственно, на 14% ($p=0,002$) и на 62% ($p < 0,0001$) (табл. 2).

Прирост массы тела мышей в контрольной группе был достоверно больше, чем в интактной группе, начиная с первой недели «тренировок». В среднем уровень прироста массы тела в контрольной группе превышал аналогичный показатель в интактной группе на 1–4-й неделях, соответственно, на 86% ($p=0,002$), 39% ($p=0,045$), 41% ($p=0,005$) и 33% ($p=0,004$) (табл. 3).

Таким образом, установлено, что выбранный режим тренировки вносит вклад в усиление статической и динамической выносливости, координации движений, а также прироста мышечной массы экспериментальных животных.

Интермедиаты ЦТК обладают широким спектром биологической активности [6, 15].

Таблица 1. Время удержания мышей на вращающемся стержне (с) животных интактной и контрольной групп на всех этапах исследования

Table 1. Retention time of mice on RotaRod (sec) for the intact and control groups at all stages

Этап исследования	Группа	N	Mean	SD	Me	LQ	UQ	p-уровень ¹
Фон	Интактные	12	16,4	3,2	17,5	14,0	18,5	0,779 ²
	Контроль	12	17,3	10,7	14,5	9,0	24,5	
2 недели	Интактные	12	15,8	3,6	16,0	13,5	19,0	0,009 ^{2*}
	Контроль	12	25,0	10,5	25,0	16,0	32,5	
4 недели	Интактные	12	—	—	13,0	11,0	17,5	0,005 ^{3**}
	Контроль	12	29,6	12,8	30,0	18,5	37,0	

Примечание: ¹ — значение p-уровня значимости межгрупповых различий; ² — значение p-уровня значимости по t-критерию для независимых выборок; ³ — значение p-уровня значимости по критерию Манна—Уитни; * — различия, полученные с использованием t-критерия для независимых выборок, статистически значимы ($p < 0,05$); ** — различия, полученные с использованием критерия Манна—Уитни, статистически значимы ($p < 0,05$).

Note: ¹ — p-value of the significance of differences between groups; ² — p-value of significance in the t-test for independent samples; ³ — p-value of significance in the Mann—Whitney test; * — the differences obtained using the t-test for independent samples are statistically significant ($p < 0,05$); ** — differences obtained using the Mann—Whitney test are statistically significant ($p < 0,05$).

Таблица 2. Сила хвата (грамм — сила) животных интактной и контрольной групп на всех этапах исследования
Table 2. Grip strength (gram—force) for the intact and control groups at all stages

Этап исследования	Группа	N	Mean	SD	Me	LQ	UQ	p-уровень ¹
Фон	Интактные	12	21,7	2,7	20,6	20,1	23,8	0,947 ²
	Контроль	12	21,7	1,6	21,7	20,5	22,8	
2 недели	Интактные	12	—	—	21,8	21,6	22,3	0,002 ^{3*}
	Контроль	12	24,6	1,9	24,8	23,2	26,2	
4 недели	Интактные	12	—	—	22,7	22,1	22,9	<0,0001 ^{3**}
	Контроль	12	—	—	36,8	35,3	37,3	

Примечание:¹ — значение p-уровня значимости межгрупповых различий; ² — значение p-уровня значимости по t-критерию для независимых выборок; ³ — значение p-уровня значимости по критерию Манна—Уитни; * — различия, полученные с использованием t-критерия для независимых выборок, статистически значимы (p<0,05); ** — различия, полученные с использованием критерия Манна—Уитни, статистически значимы (p<0,05).

Note:¹ — p-value of the significance of differences between groups; ² — p-value of significance in the t-test for independent samples; ³ — p-value of significance in the Mann—Whitney test; * — the differences obtained using the t-test for independent samples are statistically significant (p<0.05); ** — differences obtained using the Mann—Whitney test are statistically significant (p<0.05).

Таблица 3. Прирост массы тела мышей (г) интактной и контрольной групп на всех этапах исследования
Table 3. Increase in the body weight of mice (g) for the intact and control groups at all stages

Этап исследования	Группа	N	Mean	SD	Me	LQ	UQ	p-уровень ¹
1 неделя	Интактные	12	2,17	1,30	2,00	1,25	2,75	0,002 [*]
	Контроль	12	4,04	1,32	4,00	3,50	4,75	
2 недели	Интактные	12	4,75	1,88	4,25	3,50	5,25	0,045 [*]
	Контроль	12	6,50	2,14	6,00	5,25	7,50	
3 недели	Интактные	12	6,63	1,90	6,25	5,75	7,75	0,005 [*]
	Контроль	12	9,33	2,33	9,00	7,50	10,75	
4 недели	Интактные	12	8,96	2,06	8,75	8,00	10,25	0,004 [*]
	Контроль	12	11,88	2,32	11,75	10,50	13,50	

Примечание:¹ — значение p-уровня значимости по t-критерию для независимых выборок; * — различия, полученные с использованием t-критерия для независимых выборок, статистически значимы (p<0,05).

Note:¹ — p-value of significance in the t-test for independent samples; * — the differences obtained using the t-test for independent samples are statistically significant (p<0.05).

Известно, что яблочная, α-кетоглутаровая, янтарная кислоты и их соли, вовлекаясь в процессы образования энергии, снижают уровень молочной кислоты в крови и тканях, повышают образование глюкозы из продуктов обмена. Усиление окисления этих органических кислот — в особенности янтарной — является физиологическим приспособительным механизмом, благодаря которому повышается устойчивость к физическим нагрузкам [7].

При оценке влияния исследуемых соединений на координацию движений и динамическую выносливость достоверные различия между исследуемыми группами

по показателю время удержания на RotaRod с использованием дисперсионного анализа (p=0,041) были выявлены только через 4 недели «тренировок» (табл. 4).

Апостериорное сравнение с применением критерия Дуннета показало, что после введения ДМАЭ-малата время удержания животных на вращающемся стержне на 4-й неделе было достоверно выше, чем в контрольной группе, на 61% (p=0,011). Введение остальных препаратов также увеличивало время удержания, однако уровень различий с группой контроля был статистически не значим. Р-уровни апостериорных сравнений с использованием критерия

Таблица 4. Время удержания на вращающемся стержне (с) животных исследуемых групп на 4-й неделе исследования

Table 4. Retention time of mice on RotaRod (sec.) for the intact and control groups at the 4th week of the study

Этап исследования	Группа	Значения переменной			p-уровень межгрупповых различий ¹	p-уровень парных межгрупповых различий ²
		N	Mean	SD		
4 неделя	Контрольная	12	29,6	12,8	0,041*	—
	Этилтиобензимидазол	12	42,8	8,3		0,095
	ДМАЭ-малат	12	47,6	15,0		0,011**
	ДМАЭ-кетоглутарат	12	44,1	9,5		0,055
	ДМАЭ-сукцинат	12	43,6	13,7		0,068
	ДМАЭ-фумарат	12	38,0	20,9		0,445

Примечание:¹ — значение p-уровня значимости в One Way ANOVA; ² — значение p-уровня значимости при сравнении с использованием критерия Дуннета (апостериорное сравнение с контрольной группой); * — различия, полученные с использованием One Way ANOVA, статистически значимы (p<0,05); ** — различия, полученные с использованием критерия Дуннета, статистически значимы (p<0,05).

Note:¹ — p-value of the significance in One Way ANOVA; ² — p-value of significance in the Dunnett test (a posteriori comparison with the control group); * — differences obtained using One Way ANOVA are statistically significant (p<0.05); ** — differences obtained using the Dunnett test are statistically significant (p<0.05).

Ньюмана—Кеулса после введения всех исследуемых препаратов превышали уровень значимости (0,05), что свидетельствовало об отсутствии значимых различий между исследуемыми препаратами по данному показателю.

Яблочная кислота и её соли являются регуляторами энергетики мышечной деятельности. О положительном влиянии малата на физическую работоспособность, особенно в период восстановления после истощающих нагрузок, сообщалось в работах различных авторов [19, 23]. Малат, среди прочего, вовлекается в работу малат-аспартатной челночной системы, каждые 2 цикла которой обеспечивают синтез 5 молекул АТФ в мышечных тканях.

В проведённом исследовании наблюдали рост динамической выносливости в группе ДМАЭ-малат к 4-й неделе исследования. Возможная причина такого изменения — постепенное включение в работу малат-аспартатной челночной системы; при этом малат антипортом с α-кетоглутаратом проникает в митохондрии и, являясь метаболитом ЦТК, окисляется в оксалоацетат с образованием НАДН. Кроме того, малатдегидрогеназа, переводящая малат в оксалоацетат, высокочувствительна к утомле-

нию и регулируется уровнем малата [5]. Во-вторых, вероятно, малат может способствовать утилизации лактата, накапливающегося в скелетных мышцах во время тренировок, что очень важно для защиты мышц от усталости и их восстановления после нагрузок. Так, известно, что малат через оксалоацетат в цитозоле клетки превращается в фосфоенолпируват. Данный механизм служит обходным путём в глюконеогенезе и направлен на ресинтез АТФ. Также в ряде работ отмечается участие малата в биохимической адаптации организма к гипоксии, т.к. образующийся НАДФН в результате реакции малат-оксалоацетат используется глутатионредуктазной/глутатионпероксидазной ферментной антиоксидантной системой [19, 23].

Динамическая выносливость — способность мышц к выполнению среднеинтенсивной работы без утомления на протяжении небольшого отрезка времени, главным образом связана с фенотипом, т.е. с наличием воздействия со стороны окружающей среды — тренировками [3]. Таким образом, чем сильнее развиты скелетные мышцы, тем лучше тренируется данный вид выносливости. Следовательно, ДМАЭ-малат создал условия для тренировки мышц

животных и оптимизировал процессы их утомления и восстановления.

Дисперсионный анализ силы хвата продемонстрировал достоверные отличия между исследуемыми группами на 2-й ($p=0,001$) и 4-й ($p<0,0001$) неделях после начала тренировок (табл. 5). На 2-й неделе после начала введения ДМАЭ-малата и ДМАЭ-кетоглутарата уровень статической мышечной выносливости был достоверно выше, чем в контрольной группе, со-

ответственно, на 16,2% ($p=0,005$) и 15,8% ($p=0,006$).

Через 2 недели тренировок наименьшее влияние на статическую мышечную выносливость оказали этилтиобензимидазол, ДМАЭ-фумарат и ДМАЭ-сукцинат (на уровне контрольных значений), в противоположность группам, получавшим ДМАЭ-малат и ДМАЭ-кетоглутарат, которые продемонстрировали достоверное увеличение исследуемого показателя (табл. 6).

Таблица 5. Сила хвата животных (грамм — сила) исследуемых групп на 2-й и 4-й неделях исследования
Table 5. Grip strength of mice (gram — force) at the 2nd and 4th weeks of the study

Этап исследования	Группа	Значения переменной			р-уровень межгрупповых различий ¹	р-уровень парных межгрупповых различий ²
		N	Mean	SD		
2-я неделя	Контрольная	12	24,6	1,9	0,001*	—
	Этилтиобензимидазол	12	24,7	4,5		1,000
	ДМАЭ-малат	12	28,6	1,6		0,005**
	ДМАЭ-кетоглутарат	12	28,5	1,0		0,006**
	ДМАЭ-сукцинат	12	26,8	3,6		0,237
	ДМАЭ-фумарат	12	25,3	3,2		0,964
4-я неделя	Контрольная	12	36,0	2,2	<0,0001*	—
	Этилтиобензимидазол	12	38,2	1,2		0,247
	ДМАЭ-малат	12	37,8	1,0		0,435
	ДМАЭ-кетоглутарат	12	43,1	5,7		<0,0001**
	ДМАЭ-сукцинат	12	40,4	2,4		0,003**
	ДМАЭ-фумарат	12	36,9	2,8		0,909

Примечание:¹ — значение р-уровня значимости в One Way ANOVA;² — значение р-уровня значимости при сравнении с использованием критерия Дуннета (апостериорное сравнение с контрольной группой); * — различия, полученные с использованием One Way ANOVA, статистически значимы ($p<0,05$); ** — различия, полученные с использованием критерия Дуннета, статистически значимы ($p<0,05$).

Note:¹ — p-value of the significance in One Way ANOVA;² — p-value of significance in the Dunnett test (a posteriori comparison with the control group); * — differences obtained using One Way ANOVA are statistically significant ($p<0,05$); ** — differences obtained using the Dunnett test are statistically significant ($p<0,05$).

Таблица 6. Квадратичная матрица апостериорных сравнений исследуемых соединений через 2 недели с использованием критерия Ньюмана—Кеулса

Table 6. Quadratic matrix of a posteriori comparisons of the studied compounds after 2 weeks using the Newman—Keuls test

Препарат	Этилтиобензимидазол	ДМАЭ-малат	ДМАЭ-кетоглутарат	ДМАЭ-сукцинат	ДМАЭ-фумарат
Этилтиобензимидазол	—	0,023*	0,016*	0,225	0,633
ДМАЭ-малат	0,023*	—	0,988	0,324	0,051
ДМАЭ-кетоглутарат	0,016*	0,988	—	0,158	0,030*
ДМАЭ-сукцинат	0,225	0,324	0,158	—	0,239
ДМАЭ-фумарат	0,633	0,051	0,030*	0,239	—

Примечание: * — различия для препарата в строке статистически значимы по сравнению с препаратом, представленном в соответствующем столбце ($p<0,05$).

Note: * — the differences for the drug in the row are statistically significant in comparison with the drug presented in the corresponding column ($p<0,05$).

При использовании критерия Дуннета достоверные различия по сравнению с группой контроля на 4-й неделе были установлены для ДМАЭ-кетоглутарата и ДМАЭ-сукцината, которые превышали контрольный уровень соответственно на 20% ($p < 0,0001$) и 12% ($p = 0,003$) (табл. 7). Статическая мышечная выносливость животных после курса введения ДМАЭ-кетоглутарата и ДМАЭ-сукцината была достоверно выше по сравнению с остальными соединениями, включая этилтиобензимидазол.

Янтарная кислота — промежуточный продукт цикла Кребса, принимающий участие в энергопродукции в клетках организма. При участии кофермента флавинадениндуклеотида (ФАД) янтарная кислота быстро трансформируется митохондриальным ферментом сукцинатдегидрогеназой в фумаровую кислоту и далее в другие интермедиаты ЦТК. Сукцинаты стимулируют аэробный гликолиз и синтез аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в клетках. Также улучшают тканевое дыхание за счёт активации транспорта электронов в митохондриях [2].

α -кетоглутарат (АКГ) является важной биомолекулой, которая играет ключевую роль во множестве метаболических путей. В качестве интермедиата цикла Кребса он координирует работу других его субстратов,

тем самым регулируя синтез аминокислот, производство АТФ, уровни активных форм кислорода. АКГ также является обязательным субстратным кофактором для ряда ферментов, которые катализируют реакции гидроксирования различных типов субстратов, включая белки, нуклеиновые кислоты, липиды и т.д. АКГ также оказывает влияние на пролил/аспартил/лизил гидроксирование, что, в свою очередь, регулирует стабильность индуцируемого гипоксией фактора (HIF-1) и синтез коллагена [14, 24].

Т.к. статическая выносливость связана с удержанием рабочего напряжения в определенной позе, во многом связана с генотипом и требует значительного вмешательства в работу мышечных клеток [17], можно предположить о сигнальной роли субстратов цикла Кребса — кетоглутарата и сукцината. Кетоглутарат и сукцинат, помимо метаболического пути воздействия, могут выступать лигандами специфических рецепторов GPR99 и SUCNR1, соответственно [12, 15, 22].

В проведённом исследовании наблюдается усиление статической выносливости ко 2-й неделе в группе ДМАЭ-малат и ДМАЭ-кетоглутарат, к 4-й неделе — в группах ДМАЭ-кетоглутарат и ДМАЭ-сукцинат.

Окисление сукцината обеспечивает накопление кальция и опосредованные данным

Таблица 7. Квадратичная матрица апостериорных сравнений исследуемых соединений через 4 недели с использованием критерия Ньюмана—Кеулса

Table 7. Quadratic matrix of a posteriori comparisons of the studied compounds after 4 weeks using the Newman—Keuls test

Препарат	Этилтиобензимидазол	ДМАЭ-малат	ДМАЭ-кетоглутарат	ДМАЭ-сукцинат	ДМАЭ-фумарат
Этилтиобензимидазол	—	0,744	0,001*	0,096	0,562
ДМАЭ-малат	0,744	—	0,001*	0,117	0,487
ДМАЭ-кетоглутарат	0,001	0,001*	—	0,033	0,001*
ДМАЭ-сукцинат	0,096	0,117	0,033	—	0,042*
ДМАЭ-фумарат	0,562	0,487	0,001*	0,042*	—

Примечание: * — различия для препарата в строке статистически значимы по сравнению с препаратом, представленном в соответствующем столбце ($p < 0,05$).

Note: * — the differences for the drug in the row are statistically significant in comparison with the drug presented in the corresponding column ($p < 0.05$).

Таблица 8. Прирост массы тела (g) исследуемых групп на 4-й неделе исследования
Table 8. Increase in the body weight of mice (g) of the studied groups at the 4th week of the study

Этап исследования	Группа	Значения переменной			p-уровень межгрупповых различий ¹	p-уровень парных межгрупповых различий ²
		N	Mean	SD		
4 неделя	Контрольная	12	11,88	2,32	0,027*	—
	Этилпиобензимидазол	12	13,13	1,52		0,750
	ДМАЭ-малат	12	13,21	3,19		0,702
	ДМАЭ-кетоглутарат	12	15,38	2,93		0,022**
	ДМАЭ-сукцинат	12	14,88	3,68		0,062
	ДМАЭ-фумарат	12	12,21	3,51		0,999

Примечание:¹ — значение p-уровня значимости в One Way ANOVA; ² — значение p-уровня значимости при сравнении с использованием критерия Дуннета (апостериорное сравнение с контрольной группой); * — различия, полученные с использованием One Way ANOVA, статистически значимы ($p < 0,05$); ** — различия, полученные с использованием критерия Дуннета, статистически значимы ($p < 0,05$).

Note:¹ — p-value of the significance in One Way ANOVA; ² — p-value of significance in the Dunnett test (a posteriori comparison with the control group); * — differences obtained using One Way ANOVA are statistically significant ($p < 0.05$); ** — differences obtained using the Dunnett test are statistically significant ($p < 0.05$).

катионом интенсивные функции, такие как мышечное сокращение. Ограничение окисления сукцината α -кетоглутаратом предупреждает чрезмерное поступление кальция, перегрузку кальций-выводящих каналов и инициацию избыточного образования свободных радикалов в митохондриях. Этим достигается стабильность энергообразовательной функции митохондрий, восполнение фонда АТФ и ГТФ в тканях, поддержание работы органов в условиях различных физиологических и патологических состояний [14]. Видимо поэтому наблюдался такой ровный рост статической выносливости во время всего эксперимента в случае применения ДМАЭ-кетоглутарата, что также подтверждают нижеприведённые данные по росту мышечной массы.

Интересно, что фумаратная соль производного ДМАЭ при курсовом введении оказывает противоположное действие. Согласно литературным данным, фумаратсодержащие препараты могут быть использованы для коррекции нарушений энергетического обмена и устранения энергодифицита при гипоксии [4, 13, 21]. Эти соединения оказывают наибольший эффект в условиях жёсткой гипоксии (фактически, аноксии). Механизм их действия в данном случае обусловлен инверсией

терминальных реакций цикла Кребса, т.е. запуском реакций превращения «сукцинат—фумарат—малат» в обратном направлении. В результате происходит накопление сукцината, который впоследствии (при уменьшении глубины гипоксии и восстановлении прямого направления реакций) окисляется с дополнительным получением энергии. Однако в ходе проведенного эксперимента моделировались нагрузки умеренной интенсивности (аэробный, аэробно-анаэробный режим), поэтому, очевидно, значимого положительного влияния ДМАЭ-фумарат на показатели работоспособности не оказал.

Достоверные различия между исследуемыми группами по приросту массы тела с использованием дисперсионного анализа ($p = 0,027$) были выявлены только через 4 недели тренировок у групп, получавших ДМАЭ-сукцинат (недостоверно) и ДМАЭ-кетоглутарат (достоверно) (табл. 8).

Апостериорное сравнение с применением критерия Дуннета показало, что после введения ДМАЭ-кетоглутарата исследуемый показатель на 4-й неделе был достоверно выше, чем в контрольной группе, на 29% ($p = 0,022$). Введение остальных соединений также способствовало приросту массы тела,

Таблица 9. Статистически значимое влияние на показатели статической и динамической выносливости, а также на мышечную массу производных диметиламиноэтанола с интермедиатами цикла трикарбоновых кислот

Table 9. Statistically significant effect of dimethylaminoethanol derivatives with tricarboxylic acid cycle intermediates on the indicators of static and dynamic endurance and body weight

Группа	ДМАЭ-малат		ДМАЭ-кетоглутарат		ДМАЭ-сукцинат	
	2 неделя	4 неделя	2 неделя	4 неделя	2 неделя	4 неделя
Динамическая выносливость		+		±		±
Статическая выносливость	+		+	+		+
Масса тела				+		±

однако уровень различий с группой контроля был статистически не значим.

Р-уровни апостериорных сравнений с использованием критерия Ньюмана—Кеулса после введения исследуемых соединений были выше уровня значимости (0,05), что свидетельствовало об отсутствии существенных различий между группами по приросту массы тела.

Через 4 недели тренировок наилучшие результаты (в порядке возрастания) по сравнению с исходным уровнем показали животные, получавшие ДМАЭ-малат, ДМАЭ-сукцинат и ДМАЭ-кетоглутарат. При этом их показатели статической и динамической выносливости и координации оказались достоверно выше, чем в контроле, и сопоставимы с таковыми у этилтиобензидазола. Полученные данные коррелируют с результатами других авторов [10].

Таким образом, среди изученных соединений наиболее перспективными с точки зрения повышения физической работоспособности являются ДМАЭ-малат, ДМАЭ-кетоглутарат и ДМАЭ-сукцинат (табл. 9).

Выводы

На основании проведённой работы можно сделать следующие выводы:

1. Тренировочный процесс вносит вклад в увеличение как статической, так и дина-

мической работоспособности, а также прирост мышечной массы экспериментальных животных, что подтверждает эффективность выбранного режима тренировок.

2. Наибольшее влияние на динамическую выносливость и координацию движений оказал ДМАЭ-малат спустя 4 недели тренировок, превзойдя показатели контрольной группы на 60% ($p=0,011$). Показатели динамической выносливости во всех исследуемых группах ДМАЭ-интермедиат ЦТК статистически значимо не отличались от препарата сравнения — этилтиобензидазола.

3. Сила хвата достоверно увеличивалась начиная со второй недели тренировок в группах животных, получавших ДМАЭ-малат (на 16%, $p=0,005$) и ДМАЭ-кетоглутарат (на 15,8%, $p=0,006$), однако к 4-й неделе наилучшие показатели продемонстрировали ДМАЭ-кетоглутарат (на 19,7%, $p=0,0001$) и ДМАЭ-сукцинат (на 12,2%, $p=0,003$) по сравнению с контрольной группой и группой этилтиобензидазола.

4. Введение всех исследуемых препаратов ДМАЭ-интермедиат ЦТК способствовало приросту массы тела, при этом к 4-й неделе эксперимента данный показатель был достоверно выше у группы животных, получавших ДМАЭ-кетоглутарат (на 29%, $p=0,022$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Казакова Л.Х., Алимкина О.В., Касинская Н.В. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине. *Биомедицина*. 2012;4:15–21. [Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Kazakova L.Kh., Alimkina O.V., Kasinskaya N.V. Metodiki izucheniya fiziologicheskikh funktsij laboratornykh zhivotnykh dlja doklinicheskikh issledovaniy v sportivnoy medicine [Methods for studying the physiological functions of laboratory animals for preclinical research in sports medicine]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2012;4:15–21. (In Russian)].
2. Каркищенко Н.Н., Уйба В.В. *Очерки спортивной фармакологии. Т. 4. Векторы энергообеспечения*. М., СПб.: Айсинг, 2014:296. [Karkischenko N.N., Ujba V.V. *Ocherki sportivnoy farmakologii. T. 4. Vektory jenergoobespecheniya [Essays on sports pharmacology. Vol. 4. Vectors of energy supply]*. Moscow, Saint Petersburg: Ajsing Publ., 2014:296. (In Russian)].
3. Клочков А.В., Баранов Л.Г. *Развитие выносливости: метод. реком.* Могилев: МГУ имени А.А. Кулешова, 2017:30. [Klochkov A.V., Baranov L.G. *Razvitie vynoslivosti [Development of endurance]: Guidelines*. Mogilev: MGU imeni A.A. Kuleshova Publ., 2017:30. (In Russian)].
4. Маевский Е.И., Гришина Е.В. Биохимические основы механизма действия фумарат-содержащих препаратов. *Биомедицинский журнал Medline.ru*. 2017;18:50–80. [Maevskij E.I., Grishina E.V. Biohimicheskie osnovy mehanizma dejstva fumarat-soderzhshhikh preparatov [Biochemical basis of the mechanism of action of fumarate-containing preparations]. *Biomedical Journal Medline.ru*. 2017;18:50–80. (In Russian)].
5. *Методические рекомендации ФМБА России. Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность*. М.: 2017:134. [Metodicheskie rekomendacii FMBA Rossii. Biomedicinskoe (doklinicheskoe) izuchenie lekarstvennykh sredstv, vlijajushhikh na fizicheskuyu rabotosposobnost' [Methodical recommendations of FMBA of Russia. Biomedical (preclinical) study of drugs that affect physical performance]. Moscow, 2017:134. (In Russian)].
6. Оковитый С.В., Радько С.В. Влияние различных фармакологических веществ на восстановление физической работоспособности после нагрузок в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018;81(4):28–32. [Okovityj S.V., Rad'ko S.V. Vlijanie razlichnykh farmakologicheskikh veshhestv na vosstanovlenie fizicheskoy rabotosposobnosti posle nagruzok v jeksperimente [The influence of various pharmacological substances on the restoration of physical performance after exercise in the experiment]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2018;4:28–32. (In Russian)].
7. Оковитый С.В., Радько С.В. Применение сукцинатов в спорте. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2015;92(6):59–65. [Okovityj S.V., Rad'ko S.V. Primenenie sukcinatov v sporte [The use of succinates in sports]. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoy kul'tury [Questions of balneology, physiotherapy and physical therapy]*. 2015;92(6):59–65. (In Russian)].
8. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова*. М.: Изд-во Гриф и К., 2012:944. [Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaja [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one]. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Izd-vo Grif i K. 2012:944. (In Russian)].
9. Сысоев Ю.И., Титович И.А., Оковитый С.В. Производные этаноламина как нейропротекторные средства. *Фармация*. 2019;68(1):48–55. [Sysoev Ju.I., Titovich I.A., Okovityj S.V. Proizvodnyye jetanolamina kak nejroprotektornye sredstva [Ethanolamine derivatives as neuroprotective agents]. *Pharmacy*. 2019;1:48–55. (In Russian)].
10. Шустов Е.Б., Болотова В.Ц. Биологическое моделирование утомления при физических нагрузках. *Биомедицина*. 2013;3:95–104. [Shustov E.B., Bolotova V.C. Biologicheskoe modelirovanie utomleniya pri fizicheskikh nagruzках [Biological modeling of exercise fatigue]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2013;3:95–104. (In Russian)].
11. Шустов Е.Б., Каркищенко В.Н., Семёнов Х.Х. Поиск закономерностей, определяющих антигипоксическую активность соединений с ноотропным и нейропротекторным действием. *Биомедицина*. 2015;1:18–23. [Shustov E.B., Karkischenko V.N., Semenov H.H. Poisk zakonemnostej, opredelajushhikh antigipoksicheskiju aktivnost' soedinenij s nootropnym i nejroprotektornym dejstviem [Search for patterns that determine the antihypoxic activity of compounds with nootropic and neuroprotective effects]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2015;1:18–23. (In Russian)].
12. Aguiar C.J. Rocha-Franco J.A., Sousa P.A., et al. Succinate causes pathological cardiomyocyte hypertrophy through GPR91 activation. *Cell Communication and Signaling*. 2014;78(12):1–17.
13. Breuer J., Herich J., Schneider-Hohendorf T., et al. Dual action by fumaric acid esters synergistically reduces adhesion to human endothelium. *Mult. Scler. J*. 2017;24:1871–1882.
14. Cai X., Zhu C., Xu Y., Jing Y., Yuan Y., Wang L., et al. Alpha-ketoglutarate promotes skeletal muscle hypertrophy and protein synthesis through Akt/mTOR signaling pathways. *Scientific Reports*. *Springer Nature*. 2016;6(1):1–11.

15. He W., Miao F., Lin D., et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. *Nature*. 2004;429:188.
16. Malanga G. New insights on dimethylaminoethanol (DMAE) features as a free radical scavenger. *Drug Metabolism Letters*. 2012;6(1):54–59.
17. Marques-Aleixo I., Oliveira P.J., Moreira P.I., et al. Physical exercise as a possible strategy for brain protection: evidence from mitochondrial-mediated mechanisms. *Prog. Neurobiol.* 2012;99(2):149–162.
18. Oh S., Oliynyk S., Actoprotectors. *New class of pharmacological agents*. Seoul: Aprerio Publ., 2015:150.
19. Qiang F. Effect of Malate-oligosaccharide Solution on Antioxidant Capacity of Endurance Athletes. *The Open Biomedical Engineering J.* 2015;9:326–329.
20. Shipkowski K.A., Sanders J.M., McDonald J.D., et al. Comparative disposition of dimethylaminoethanol and choline in rats and mice following oral or intravenous administration. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2019:51.
21. Tang H., Lu J.Y., Zheng X., et al. The psoriasis drug monomethylfumurate is a potent nicotinic acid receptor agonist. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008;375:562–565.
22. Yuan Y., Yaqiong X., Jingren X., et al. Succinate promotes skeletal muscle protein synthesis via Erk1/2 signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*. 2017;16(15). DOI: 10.3892/mmr.2017.7554.
23. Wu J.L., Wu Q.P., Huang J.M., et al. Effects of L-malate on physical stamina and activities of enzymes related to the malate-aspartate shuttle in liver of mice. *Physiol. Res.* 2007;56(2):213–220.
24. Zdzisińska B., Żurek A., Kandefer-Szerszeń M. Alpha-Ketoglutarate as a Molecule with Pleiotropic Activity: Well-Known and Novel Possibilities of Therapeutic Use. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 2016;65(1):21–36.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Чистякова Елизавета Юрьевна*, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: elizaveta.chistyakova@pharminnotech.com

Оковитый Сергей Владимирович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: okovityy@mail.ru

Юсковец Валерий Николаевич, к.х.н., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: oxazin@yahoo.com

Лисицкий Дмитрий Сергеевич, к.б.н., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: dmitrii.lisitskii@pharminnotech.com

Верведа Алексей Борисович, к.м.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: aleksivan02@rambler.ru

Elizaveta Yu. Chistyakova*, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: elizaveta.chistyakova@pharminnotech.com

Sergey V. Okovityy, Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: okovityy@mail.ru

Valerii N. Yuskovec, Cand. Sci. (Chem.), Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: oxazin@yahoo.com

Dmitrii S. Lisitskii, Cand. Sci. (Biol.), Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: dmitrii.lisitskii@pharminnotech.com

Alexey B. Verveda, Cand. Sci. (Med.), Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: aleksivan02@rambler.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author