

ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ФУМАРОВОЙ КИСЛОТЫ

В.Ц. Болотова*, И.А. Титович, Е.Б. Шустов

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

197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

В тесте «Сужающаяся дорожка» на 21-е сут после окклюзии средней мозговой артерии установлено, что янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina (ФДЭС) в дозах 10 и 75 мг/кг оказывала статистически значимое снижение степени выраженности сенсомоторного дефицита передней и задней контралатеральных конечностей белых крыс-самцов в условиях церебральной ишемии. Исследуемое вещество (доза 10 мг/кг) способствовало снижению объема ишемического повреждения коры головного мозга крыс в 1,5 раза. По нейропротективной активности янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina 10 мг/кг сопоставима с действием препарата цитиколина 500 мг/кг.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, сенсомоторный дефицит, нейропротекторное средство, диэтилэтанолamina производное

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Болотова В.Ц., Титович И.А., Шустов Е.Б. Изучение нейропротекторной активности нового производного фумаровой кислоты. *Биомедицина*. 2021;17(3):100–104. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-100-104>

Поступила 10.05.2021

Принята после доработки 25.05.2021

Опубликована 10.09.2021

STUDY OF THE NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF A NEW FUMARIC ACID DERIVATIVE

Vera Ts. Bolotova*, Irina A. Titovich, Evgeniy B. Shustov

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

In a narrowing beam-walking test, on the 21st day after the occlusion of the middle cerebral artery, it was found that the succinic salt of diethylaminoethanol fumaric ester (PDES), at doses of 10 and 75 mg/kg, led to a statistically significant decrease in the severity of sensorimotor deficit of the anterior and posterior contralateral limbs of male rats under the conditions of cerebral ischemia. The test substance at a dose of 10 mg/kg reduced the volume of ischemic damage to the cerebral cortex of rats by 1.5 times. In terms of neuroprotective activity, the effect of the succinic salt of diethylaminoethanol fumaric ester at a dose of 10 mg/kg is comparable to that of Citicoline at a dose of 500 mg/kg.

Keywords: acute cerebral circulatory disorders, sensory and motor deficiency, neuroprotective agent, diethylethanolamine derivative

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

For citation: Bolotova V.Ts., Titovich I.A., Shustov E.B. Study of the Neuroprotective Activity of a New Fumaric Acid Derivative. *Journal Biomed.* 2021;17(3):100–104. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-100-104>

Submitted 10.05.2021

Revised 25.05.2021

Published 10.09.2021

Введение

Острые ишемические нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) относятся к числу наиболее распространенных форм патологии, играющих ведущую роль в инвалидизации и смертности населения. В комплексном лечении цереброваскулярных заболеваний применяется нейропротекторная терапия, которая обеспечивает увеличение периода выживания нейронов в условиях повреждающего действия каскада нейробиохимических реакций как при острых, так и при хронических патологических процессах в нервной системе. В СПХФУ была синтезирована новая молекула — янтарная соль фумарового эфира диэтилэтаноламина (ФДЭС), обладающее нейротропной и антигипоксической активностью [2, 3].

Цель исследования — изучение влияния ФДЭС на неврологический дефицит после окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у белых крыс-самцов в тесте «Сужающаяся дорожка».

Материалы и методы

Исследования выполнены на 50-ти белых беспородных крысах-самцах массой 220–240 г. Животные были рандомизированы на 4-е группы (n=10): группы 1 и 2 получали ФДЭС в дозах 10 и 75 мг/кг соответственно, группа 3 получала референсный препарат цитиколин в дозе 500 мг/кг, контрольной группе вводили изотонический р-р натрия хлорида в эквивалентных количествах. Исследуемое вещество и препарат сравнения вводили ежедневно внутривенно в течение 21-го дня.

Церебральную ишемию моделировали с помощью ОСМА по методике Longa [5]. По окончании эксперимента оценивали нарушение координации движений в тесте «Сужающаяся дорожка» [6] и объем поврежденного мозга [4].

Для определения объема очага поражения ткань головного мозга окрашивали в 2% р-ре 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) в фосфатном буфере ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, pH=7,4) при комнатной температуре в течение 20–30-ти мин. Далее готовили срезы головного мозга, фотографировали цветной видеокамерой CCD IRIS (модель DXC-107AP, SONY Corp.), соединенной с микроскопом (Olympus SZ-CTV) и сканировали их. Планиметрическую обработку фотографий проводили с помощью программы ImageJ. Рассчитывали (в мм^3) объем контролатерального полушария, ипсилатерального полушария и объем поражения головного мозга.

Статистическая обработка результатов осуществлялась методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде: среднее арифметическое (M) ± стандартная ошибка среднего (m).

Результаты

На фоне фокальной ишемии тест «Сужающаяся дорожка» выявил выраженный сенсомоторный и моторно-координационный дефицит и снижение неврологического дефицита при введении исследуемого соединения (табл. 1). На 21-е сут после ОСМА для задней конечности процент соскальзывания уменьшался в среднем на 27% для обеих доз препарата

($p=1 \times 10^{-6}$, $D=0,639$) по сравнению с группой контроля. Статистически значимых различий между дозами ФДЭС выявлено не было. Для передней конечности было отмечено статистически значимое снижение данного показателя на 29% ($p=2 \times 10^{-6}$, $D=0,624$) и 41% ($p=9 \times 10^{-11}$, $D=0,832$) у животных, леченых ФДЭС, в дозе 10 и 75 мг/кг, соответственно. Различие по влиянию на переднюю конечность крысы между дозами ФДЭС статистически достоверно, улучшение состояния двигательной функции конечностей в тесте «Сужающаяся дорожка» на меньшей дозе проявлялось в большей степени. Цитиколин достоверно улучшал моторику передней конралатеральной конечности по сравнению с контролем, однако не превосходил изучаемое вещество.

Результаты исследований объема очага поражения головного мозга, вызванного ОСМА, представлены в табл. 2. У крыс, которым вводили ФДЭС в дозе 10 и 75 мг/кг,

после ОСМА наблюдали статистически значимое уменьшение очага поражения головного мозга в 1,5 раза ($p=2 \times 10^{-8}$) и 1,4 раза ($p=9 \times 10^{-6}$) соответственно, по сравнению с животными контрольной группы. Цитиколин статистически значимо уменьшал зону некроза в 1,7 раза ($p=3 \times 10^{-9}$) по сравнению с группой контрольных крыс (табл. 2).

Обсуждение результатов

Поскольку изучаемое вещество оказывало нейрореабилитационное действие в несубстратных дозах, можно предположить, что положительный эффект данного средства связан не только с возможным накоплением ацетилхолина, но и с имеющимися в строении молекулы остатками fumarата и сукцината. Вероятно, образующийся в процессе метаболизма молекулы ФДЭС сукцинат может взаимодействовать с сукцинатными рецепторами (SUCNR 1),

Таблица 1. Влияние ФДЭС и цитиколина на степень выраженности сенсомоторного дефицита передней и задней конралатеральных конечностей животных в тесте «Сужающаяся дорожка» на 21-е сут после ОСМА
Table 1. Impact of PDES and Citicolin on the severity of sensorimotor deficit of the anterior and posterior contralateral limbs of animals in a narrowing beam-walking test on the 21st day

Группа	Показатель теста «Сужающаяся дорожка» на 21-е сут после ОСМА	
	Задняя лапа	Передняя лапа
Ложнооперированная	96,80±2,15	100,00±0,00
ОСМА (контроль)	54,43±2,89 ¹	45,51±3,18 ¹
ОСМА+ФДЭС, 10 мг/кг	81,90±2,62 ²	74,91±2,91 ^{1,2}
ОСМА+ФДЭС, 75 мг/кг	81,41±2,89 ^{1,2}	86,79±1,77 ^{1,2}
ОСМА+Цитиколин	77,65±2,38 ^{1,2}	80,46±2,22 ^{1,2}

Примечание: ¹ — статистически значимое отличие от ложнооперированной группы ($p < 0,005$); ² — статистически значимое отличие от контрольной группы ($p < 0,005$), значения показателя до операции — 100 для всех групп.

Note: ¹ — statistically significant difference from the sham-operated group ($p < 0.005$); ² — statistically significant difference from the control group ($p < 0.005$), the value of the indicator before surgery — 100 for all the groups.

Таблица 2. Влияние ФДЭС на развитие ишемического очага поражения головного мозга крыс
Table 2. Impact of PDES on the development of an ischemic focus of brain lesions in rats

Группа	Размер поражения мозга в мм ³	P	D
Контрольная	310,27±8,06		
ФДЭС, 10 мг/кг	201,46±9,54	$1,71 \times 10^{-8}$	0,741
ФДЭС, 75 мг/кг	225,86±11,34	$8,47 \times 10^{-6}$	0,569
Цитиколин	182,85±10,05	$2,70 \times 10^{-9}$	0,777

Примечание: p — статистически значимое отличие от группы контроля; D — коэффициент детерминации.
Note: p — statistically significant difference from the control group; D — the coefficient of determination.

расположенными в нейронах коры головного мозга. Как было показано, SUCNR 1 рецепторы участвуют в экспрессии основных проангиогенных факторов и регуляции активности NMDA рецепторов [1], что также может вносить вклад в нейропротекторное действие изучаемого вещества.

Также не исключено, что ФДЭС является эффективным носителем холиноподобных соединений через гематоэнцефалический барьер, т.к. сопоставимые с цитиколином нейротропные эффекты отмечаются в существенно более низкой дозе (10 мг/кг для ФДЭС против 500 мг/кг для цитиколина).

Таким образом, применение ФДЭС в дозе 10 мг/кг у животных после ОСМА позволило достичь улучшения состояния моторной функции передней и задней конечностей, расположенных контралатерально к месту повреждения.

Полученные результаты исследований являются экспериментальным обоснованием целесообразности дальнейшего углубленного изучения производного фумаровой кислоты под лабораторным шифром ФДЭС в дозе 10 мг/кг в качестве потенциального нейропротектора в условиях ишемии головного мозга.

Выводы

1. Наиболее выраженный нейропротекторный эффект янтарной соли фумарового эфира диэтилэтанолamina был выявлен в дозе 10 мг/кг, который проявлялся в снижении объема ишемического повреждения коры.

2. По нейропротективной активности янтарная соль фумарового эфира диэтилэтанолamina в дозе 10 мг/кг сопоставима с действием препарата сравнения цитиколином в дозе 500 мг/кг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Оковитый С.В., Радько С.В., Шустов Е.Б. Сукцинатные рецепторы (SUCNR1) как перспективная мишень фармакотерапии. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(9):1–7. [Okovityj S.V., Rad'ko S.V., Shustov E.B. Sukcinatnye receptory (SUCNR1) kak perspektivnaja mishen' farmakoterapii [Succinate receptors (SUCNR1) as a promising target for pharmacotherapy]. *Chemical and Pharmaceutical J.* 2015;49(9):1–7. (In Russian)].
2. Титович И.А., Сысоев Ю.И., Болотова В.Ц., Оковитый С.В. Нейротропная активность нового производного аминокетанола в условиях экспериментальной ишемии головного мозга. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017;80(5):3–6. [Titovich I.A., Sysoev Ju.I., Bolotova V.Ts., Okovityj S.V. Nejtrotropnaja aktivnost' novogo proizvodnogo aminoketanol v uslovijah jeksperimental'noj ishemii golovnogo mozga [Neurotropic activity of a new aminoethanol derivative under conditions of experimental cerebral ischemia]. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2017;80(5):3–6. (In Russian)].
3. Титович И.А., Болотова В.Ц. Экспериментальное изучение антигипоксической активности нового производного аминокетанола. *Биомедицина*. 2016;1:77–83. [Titovich I.A., Bolotova V.Ts. Jeksperimental'noe izuchenie antigipoksicheskoj aktivnosti novogo proizvodnogo aminoketanol [Experimental study of the antihypoxic activity of a new aminoethanol derivative]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2016;1:77–83. (In Russian)].
4. Broeke J., Mateos Perez J.M., Pascau J. *Image Processing with Image J. 2nd Ed.* Packt Publ., 2015:256.
5. Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 1989;20(1):84–91.
6. Schallert T., Woodlee M.T., Fleming S.M. Disentangling multiple types of recovery from brain injury. In: Krieglstein J., Klumpp S. *Pharmacology of Cerebral Ischemia* 2002. Stuttgart: Medpharm Scientific Publ., 2002:201–216.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бологова Вера Цезаревна*, к.фарм.н., доц.,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государ-
ственный химико-фармацевтический универси-
тет» Минздрава России;

e-mail: vera.bolotova@pharminnotech.com

Титович Ирина Александровна, к.б.н.,
доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный химико-фармацевтический
университет» Минздрава России;

e-mail irina.titovich@pharminnotech.com

Шустов Евгений Борисович, д.м.н.,
проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный химико-фармацевтический
университет» Минздрава России;

e-mail: shustov-msk@mail.ru

Vera Ts. Bolotova*, Cand. Sci. (Pharm.),
Assoc. Prof., St. Petersburg State Chemical and
Pharmaceutical University of the Ministry of Health
Care of Russia;

e-mail: vera.bolotova@pharminnotech.com

Irina A. Titovich, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical
University of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail irina.titovich@pharminnotech.com

Evgeniy B. Shustov, Dr. Sci. (Med.), Prof., St.
Petersburg State Chemical and Pharmaceutical
University of the Ministry of Health Care of Russia;

e-mail: shustov-msk@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author