

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 2-ОКСИИНДОЛИН-3-ГЛИОКСИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ТОНУС СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ В ТЕСТЕ “ВЕРТИКАЛЬНЫЙ ЭКРАН”

Р. В. Луценко, В. Н. Бобырев¹

В экспериментах на белых половозрелых крысах обоего пола линии Вистар изучено влияние 16 производных 2-оксииндолин-3-глиооксиловой кислоты в эквитоксических дозах относительно препарата сравнения диазепама (2 мг/кг) на тонус скелетных мышц в тесте “вертикальный экран”. Показано, что вещества 2-гидрокси-*N*-нафтален-1-ил-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетамид, этиловый эфир [2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетиламино]уксусной кислоты и 2-гидрокси-*N*-(4-метил-2-окси-2*H*-хромен-7-ил)-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетамид способствовали удержанию животных на металлической сетке в течение всего периода исследования или существенно увеличивали латентный период падения и общее время удержания на “вертикальном экране”. В отличие от препарата сравнения диазепама вещества не вызывали миорелаксацию, а увеличивали мышечный тонус, повышали физическую работоспособность и устойчивость к форсированным статическим нагрузкам у животных.

Ключевые слова: производные 2-оксииндолин-3-глиооксиловой кислоты; миорелаксация; тест “вертикальный экран”.

ВВЕДЕНИЕ

Транквилизаторы относятся к одной из наиболее популярных групп лекарственных средств, что в значительной степени обусловлено распространенностью пограничных невротических состояний и возможностями амбулаторного использования средств пациентами [6]. Анксиолитическое действие этих препаратов спорадически или регулярно использует до 30 % всего населения, при этом в 60 % случаев они применяются без назначений врачей и надлежащих показаний. Среди побочных реакций анксиолитических средств производных бензодиазепина ведущее место занимает мышечная слабость, что в большинстве случаев является препятствием для длительного и успешного лечения этими препаратами, особенно хронической патологии [5]. Поэтому необходимо вести поиск и разработку новых веществ с анксиолитическими свойствами, которые имеют отличный от бензодиазепинов механизм действия и потенциально будут лишены характерного негативного действия. Наше внимание привлекли производные 2-оксииндолин-3-глиооксиловой кислоты, которые в тестах наказуемого поведения выявили анксиолитическую активность [4].

Цель исследования — экспериментальное изучение влияния производных 2-оксииндолин-3-глиооксиловой кислоты на тонус скелетных мышц в тесте “вертикальный экран”.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 240 белых крысах обоего пола линии Вистар массой 200 – 230 г. Группы

животных были рандомизированы по полу и возрасту, содержались в клетках по 4 – 5 особей, получали рацион в виде кормовой смеси и имели свободный доступ к воде. Все исследования проводили с соблюдением биоэтических требований и рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которых используют в экспериментальных и других научных целях. Экспериментальную работу проводили в весенний период с 9:00 ч. Исследовали 16 соединений из числа производных 2-оксииндолин-3-глиооксиловой кислоты: эфир (4-[2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетиламино]аминомасляной кислоты (ГАК), 2-гидрокси-*N*-нафтален-1-ил-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетамид (18), *N*-(4-бромфенил)-2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетамид (БСК-13), 6-[2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетиламино]капроновой кислоты (БСК-39), 2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)-*N*-[1,2,4]триазол-4-илацетамид (2-Т), 2-гидрокси-*N*-(4-метил-2-окси-2*H*-хромен-7-ил)-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетамид (К), 2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)-*N*-фенилацетамид (1-Ф), этиловый эфир [2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетиламино]уксусной кислоты (1407), 2-гидрокси-*N*-[2-(нафтален-1-иламино)этил]-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетамид (М), 3-гидрокси-3-(2-оксициклогексилметил)-1-пиперидин-1-илметил-1,3-дигидроиндол-2-он (Г), *N*-(4-бромфенил)-4-гидрокси-4-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)бутирамид (17/92), этиловый эфир 2-[2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетиламино]пропионовой кислоты (1425), [2-гидро-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетиламино]уксусная кислота (38), 3-[2-гидрокси-2-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)ацетиламино]пропионовая кислота (942), 3-(2-окси-1,2-дигидроиндол-3-илиден)-3,4-дигидро-1*H*-квиноксалин-2-он (3,85), 2-гидрокси-2-(5-метил-2-окси-1,2-ди-

¹ Высшее государственное учебное заведение Украины “Украинская медицинская стоматологическая академия”, Полтава, Украина, 36000, г. Полтава, ул. Шевченка, 23.

Влияние производных 2-оксииндолин-3-глиоксиловой кислоты на тонус скелетных мышц в тесте “вертикальный экран” ($M \pm m$)

Группа животных, $n = 10$	Латентный период первого падения, с	Общее время удержания на сетке, с	Количество не падающих, %	Количество болюсных шариков
1. Интактный контроль	63,5 ± 5,26	155 ± 4,92	70	3,50 ± 0,37
2. Контроль на инъекцию P_{1-2}	64,7 ± 4,18 > 0,25	146 ± 8,21 > 0,25	70 > 0,25 (χ^2)	3,57 ± 0,34 > 0,25
3. Сибазон, 2 мг/кг P_{2-3}	40,8 ± 5,13 < 0,002	111 ± 6,13 < 0,01	30 < 0,001 (χ^2)	1,10 ± 0,31 < 0,001
4. Соединение 1-Ф, 15,8 мг/кг P_{2-4}	72,8 ± 10,8 > 0,25	151 ± 13,7 > 0,25	40 < 0,05 (χ^2)	1,14 ± 0,10 < 0,001
5. Соединение К, 4,9 мг/кг P_{2-5}	89,0 ± 10,6 < 0,05	174 ± 8,32 < 0,05	70 > 0,25 (χ^2)	1,31 ± 0,21 < 0,001
6. Соединение 2-Т, 6,21 мг/кг P_{2-6}	75,1 ± 6,45 > 0,25	163 ± 8,30 > 0,25	60 > 0,25 (χ^2)	2,98 ± 0,21 < 0,1
7. Соединение 18, 12 мг/кг P_{2-7}	0 < 0,001	180 ± 0 < 0,001	100 > 0,25 (χ^2)	1,21 ± 0,47 < 0,001
8. Соединение 1407, 6,9 мг/кг P_{2-8}	0 < 0,001	180 ± 0 < 0,001	100 > 0,25 (χ^2)	1,80 ± 0,29 < 0,001
9. Соединение ГАК, 8,5 мг/кг P_{2-9}	56,4 ± 3,87 > 0,25	160 ± 5,21 > 0,25	60 > 0,25 (χ^2)	2,20 ± 0,36 < 0,02
10. Соединение БСК-39, 8,9 мг/кг P_{2-10}	63,6 ± 18,2 > 0,25	173 ± 5,46 < 0,05	60 > 0,25 (χ^2)	1,51 ± 0,17 < 0,001
11. Соединение БСК-13, 13,4 мг/кг P_{2-11}	57,0 ± 11,8 > 0,25	148 ± 11,9 > 0,25	50 > 0,25 (χ^2)	3,62 ± 0,22 > 0,25
12. Соединение 3.85, 8,2 мг/кг P_{2-12}	41,7 ± 5,97 < 0,02	117 ± 5,46 < 0,01	30 < 0,05 (χ^2)	3,01 ± 0,26 > 0,25
13. Соединение Г, 7,53 мг/кг P_{2-13}	58,0 ± 13,2 > 0,25	141 ± 7,12 > 0,25	50 > 0,25 (χ^2)	2,51 ± 0,27 < 0,05
14. Соединение 1425, 7,9 мг/кг P_{2-14}	63,0 ± 7,23 > 0,25	127 ± 10,6 > 0,25	60 > 0,25 (χ^2)	2,40 ± 0,21 < 0,01
15. Соединение 17/92, 7,0 мг/кг P_{2-15}	54,0 ± 4,25 > 0,25	166 ± 10,9 > 0,25	70 > 0,25 (χ^2)	3,42 ± 0,37 > 0,25
16. Соединение 38, 10,5 мг/кг P_{2-16}	60,3 ± 8,82 > 0,25	113 ± 8,27 < 0,1	70 > 0,25 (χ^2)	3,11 ± 0,27 > 0,25
17. Соединение 942, 10,9 мг/кг P_{2-17}	43,2 ± 4,46 < 0,01	102 ± 7,41 < 0,001	50 > 0,25 (χ^2)	2,79 ± 0,42 > 0,25
18. Соединение 15, 7,25 мг/кг P_{2-18}	66,3 ± 9,43 > 0,25	128 ± 10,1 > 0,25	60 > 0,25 (χ^2)	2,61 ± 0,32 < 0,1
19. Соединение М, 6,37 мг/кг P_{2-19}	40,3 ± 5,86 < 0,01	115 ± 9,55 < 0,05	70 > 0,25 (χ^2)	3,30 ± 0,30 > 0,25

гидроиндол-3-илиден)-*N*-фенилацетамид (15), которые были синтезированы в Национальном фармацевтическом университете, г. Харьков. Соединения *ex tempore* суспендировали в воде для инъекций, используя эмульгатор “Твин-80” (1 капля на 10 мг исследуемого вещества), и вводили животным в эквиторических дозах относительно референс-препарата сибазона (“Tarchomin SA”, Польша), который использовали в дозе 2 мг/кг. Производные 2-оксииндолина и классический анксиолитик вводили внутривенно за 1 час до начала тестирования. Для изучения влияния соединений на тонус скелетных мышц использовали тест “вертикальный экран”, который является одним из блиц-тестов для определения миорелаксирующих свойств и способности выдерживать статические нагрузки. Тест основан на наблюдении за животными, которых подсаживали на металлическую вертикальную сетку, и они удерживались на ней в тече-

ние определённого периода [3]. Регистрировали время латентного периода до первого падения, общее время удержания на сетке и количество непадающих животных в группе. Для оценки одного из ключевых показателей вегетативного баланса и степени тревожности подсчитывали количество болюсов у животных. Статистическую обработку полученных результатов проводили по программе Microsoft Statistika 6.0 с использованием дисперсионного анализа ANOVA и критерия χ^2 [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение животным растворителя и эмульгатора (контрольная группа), не влияло на латентный период первого падения, общее время удержания на сетке, количество не падающих животных с “вертикального экрана” и количество болюсных шариков, по сравнению с

показателями интактной группы (таблица). Профилактическое применение сибазона уменьшало латентный период первого падения в 1,6 раза ($p < 0,002$) и достоверно уменьшило общее время удержания на сетке, по сравнению с показателями контрольной группы. Классический анксиолитик уменьшал количество болюсных шариков в 3,2 раза, по сравнению с контролем ($p < 0,001$) (таблица).

Профилактическое введение производных 2-оксииндолина изменяло тонус поперечнополосатых мышц и вегетативные реакции у животных при исследовании в тесте “вертикальный экран” (таблица). Соединения с условным обозначением 1-Ф достоверно уменьшало количество непадающих животных и количество болюсов, по сравнению с контрольной группой. Вещество К увеличивало длительность латентного периода первого падения с металлической сетки в 1,4 раза ($p < 0,05$) и общее время удержания на сетке в 1,2 раза ($p < 0,05$), на фоне достоверного уменьшения количества актов дефекации, по сравнению с контролем. Крысы, которым вводили вещества с лабораторными шифрами 18 и 1407, не падали в течение всего периода тестирования, а также существенно и достоверно уменьшали количество болюсных шариков. Соединение БСК-39 достоверно увеличивало общее время удержания на сетке и уменьшало количество болюсов в 2,4 раза, по сравнению с контролем ($p < 0,001$).

Исследование тонуса скелетных мышц на фоне введения других производных 2-оксииндолина показало, что соединения с условными обозначениями 2-Т, ГАК, БСК-13, Г, 1425, 17/92, 15 и 38 достоверно не влияли на латентный период первого падения и общее время удержания на сетке. При этом вещества ГАК, Г и 1425 достоверно уменьшали количество болюсных шариков, по сравнению с контрольной группой (таблица). Вещества с лабораторными шифрами 3.85, 942 и М достоверно уменьшали время латентного периода первого падения, общее время удержания на сетке вертикального экрана и не влияли на количество болюсных шариков, по сравнению с контролем. При этом введение соединения 3.85 приводило к уменьшению на 40 % количества животных, которые не падали с металлической сетки. Такое действие может быть связано с дискоординацией движе-

ний или снижением тонуса мышц у животных под влиянием перечисленных производных 2-оксииндолина.

Важно отметить, что среди производных 2-оксииндолин-3-глиоксиловой кислоты некоторые соединения положительно влияли на изучаемые показатели в тесте “вертикальный экран”. Вещества с лабораторными шифрами 18, 1407 и К существенно увеличивали способность животных удерживаться на металлической сетке. Введение этих соединений, в отличие от сибазона, повышало мышечный тонус, физическую выносливость и устойчивость к форсированным статическим нагрузкам. На этом фоне уменьшение количества болюсных шариков свидетельствует об ограничении эмоциональности животных и наличии анксиолитической активности.

Следует отметить, что увеличение времени удержания на сетке под влиянием соединений 18 и 1407 можно расценивать как актопротекторную активность. Эти предположения подтверждаются предыдущими исследованиями, в которых показана способность этих веществ удлинять период активного плавания животных в условиях гипотермии [1].

ВЫВОД

Введение производных 2-оксииндолин-3-глиоксиловой кислоты с условными обозначениями 18 и 1407 и К в дозах, близких к дозам сибазона (2 мг/кг), не вызывало миорелаксации в тесте “вертикальный экран”.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Болотов, С. В. Колесник, Т. А. Девяткина и др., Патент Украины 92646; *Бюл. изобрет.*, № 22, 13 (2010).
2. В. Я. Гельман, *Медицинская информатика: практикум*, Питер, Санкт-Петербург (2001).
3. А. В. Калугев, *Нейронауки*, № 1, 34 – 56 (2006).
4. Р. В. Луценко, В. Н. Бобирьев, Т. А. Девяткина, *Казанский мед. журн.*, **94**(4), 553 – 560 (2013).
5. D. S. Baldwin, C. Allgulander, B. Bandelow, et al., *World J. Biol. Psychiatry*, **13**(7), 510 – 516 (2012).
6. R. C. Kessler, P. Berglund, O. Demler et al., *Arch. Gen. Psychiatry*, **62**(6), 593 – 602 (2005).

Поступила 17.04.14

STUDYING THE INFLUENCE 2-OXYINDOLIN-3-GLYOXYLIC ACID DERIVATIVES ON SKELETAL MUSCLE TONUS IN THE VERTICAL SCREEN TEST ON RATS

R. V. Lutsenko and V. M. Bobryov

Ukrainian Medical Stomatological Academy, ul. Shevchenko 23, 36000 Poltava, Ukraine

Experiments on white adult male and female Wistar rats were performed in order to determine the influence of 16 derivatives of 2-oxyindolin-3-glyoxylic acid in equivalent-toxicity doses in comparison with diazepam (2 mg/kg) on the tonus of skeletal muscles in the vertical screen test. It is established that some substances, including 2-hydroxy-N-naphthalen-1-yl-2-(2-oxo-1,2-dihydro-indol-3-ylidene)-acetamide, [2-hydroxy-2-(2-oxo-1,2-dihydro-indol-3-ylidene)-acetylamino]-acetic acid ethyl ester, and 2-ahydroxy-N-(4-methyl-2-oxo-2H-chromen-7-yl)-2-(2-oxo-1,2-dihydro-indol-3-ylidene) acetamide increased the percentage retention of animals on a wire mesh grid during the entire period of investigation or significantly increased the latent period of dropping and the total time of retention on the wire mesh in the vertical screen test. In contrast to the reference drug (diazepam), test substances did not cause muscle relaxation but increased the muscle tonus, physical work capacity, and stability under forced static load conditions in test animals.

Keywords: 2-oxyindolin-3-glyoxylic acid derivatives; muscle relaxation; vertical screen test