

УДК 612.325.35:615.214.22

**Г. В. Майкова**<sup>1</sup>, канд. біол. наук, доц.,**О. В. Жук**<sup>2</sup>, д-р біол. наук, проф.<sup>1</sup> Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,  
кафедра фізіології людини та тварин,  
вул. Дворянська 2, Одеса, 65026, Україна. Тел.: (0482) 68-79-32<sup>2</sup> Опольський університет,  
кафедра молекулярної та експериментальної біології,  
вул. Камінка, 4, Опольце, 45564, Польща

## ПРОТИСУДОМНА АКТИВНІСТЬ ЦИНАЗЕПАМУ НА МОДЕЛЯХ СУДОМ З РІЗНИМ МЕХАНІЗМОМ ВИНИКНЕННЯ

Досліджено протисудомні властивості нового вітчизняного транквілізатору 1,4-бенздіазепінового ряду — циназепаму. Виявлена висока протисудомна активність препарату, яка вірогідно не відрізнялася від такої феназепаму — препарату порівняння, який використовується в медичній практиці. Використовування моделей судом з різними механізмами виникнення, які адекватні клінічним типам нападів, дозволяють припустити перспективність впровадження досліджуваного препарату в медичну практику для лікування моторних пароксизмів, генералізованих тоніко-клонічних судом, малих нападів, осередкової епілепсії.

**Ключові слова:** циназепам, протисудомна активність, експериментальна епілепсія.

Особливості фармакологічного спектра транквілізаторів 1,4-бенздіазепінового ряду дають можливість широко використовувати їх у медицині [1, 2]. Незважаючи на розмаїтість і ефективність існуючих транквілізаторів, потреби практичної медицини обумовлюють пошук і створення нових препаратів даної групи, що володіють визначеним комплексом психофармакологічних та селективних властивостей. До числа таких сполук можна віднести новий транквілізатор 1,4-бенздіазепінового ряду — циназепам, що був синтезований у Фізико-хімічному інституті ім. О. В. Богатського. У теперішній час цей препарат знаходиться на стадії доклінічного вивчення: розроблений лабораторний регламент отримання циназепаму; вивчена його фармакокінетика та метаболізм в організмі експериментальних тварин, проведені токсикологічні дослідження, визначено специфічний снотворний ефект [3]. Можливість створення на основі циназепаму водорозчинної солі, а, отже, і ін'єкційної форми препарату, на відміну від ліпофільних похідних даного ряду, полегшує його використання, особливо при судомних нападах. Серед протисудомних препаратів, широко

використовуваних у лікуванні епілепсії, вживається ряд похідних бенздіазепіну (клоназепам, лоразепам, нітразепам, феназепам та ін.) [4].

Метою даного дослідження було вивчення протисудомних властивостей циназепаму на моделях судом з різним механізмом виникнення.

### **Матеріали та методи дослідження**

Для досліджень використовували похідні 1,4-бенздіазепіну: циназепам і феназепам як препарат порівняння. Сполуки були синтезовані в ФХІ ім. О. В. Богатського НАН України та в ПНДЛ-5 ОНУ ім. І. І. Мечникова. Досліди були проведені на 372 безпородних мишах обох статей масою 18–25 г та 48 білих щурах масою 180–280 г.

Досліджувані водорозчинні речовини вводили тваринам в 0,9% розчині NaCl, ліпофільні (похідні 1,4-бенздіазепіну) — в емульсії Tween-80. Похідні 1,4-бенздіазепіну вводили у дозах 0,001–28 мг/кг внутрішньочеревинно. Вибір доз цих препаратів був обумовлений попередніми дослідженнями їх протисудомної активності як при внутрішньосудинній інфузії зворотних агоністів ГАМК-медіаторної системи, так і на моделі осередкової епілепсії, яку викликали аплікацією бікукуліну, коразолу, пікротоксину, пеніциліну, що дало змогу провести порівняльний аналіз дії ліків у різних модельних умовах гальмівних медіаторних систем [5, 6]. Контрольним групам тварин вводили у відповідних об'ємах фізіологічний розчин або твінову емульсію.

Визначення протисудомної активності провадили за методом максимального електрошоку та антагонізму до коразолу [7], а також шляхом реєстрації порогових доз судомних агентів (мінімальних ефективних доз — МЕД) за внутрішньосудинної інфузії на фоні попереднього внутрішньочеревинного введення різних доз бенздіазепінів [8] та використання електрофізіологічного методу із застосуванням моделі осередкової епілепсії у щурів [9, 10].

Статистичну обробку даних (критерій Ст'юдента, дисперсійний аналіз) провадили у відповідності до алгоритмів [11, 12] з використанням програмного пакету "Statistics 5.0". Для розрахунку лінійної регресії використовували модифікації методу найменших квадратів зважених середніх групових величин [13].

### **Результати дослідження та їх обговорення**

Судомні напади можуть мати різну етіологію, тому для оцінки протисудомної активності циназепаму використовували декілька експериментальних моделей епілептичних станів, що адекватні клінічним типам нападів.

Результати проведеної роботи показали, що циназепам як антагоніст коразолу виявляв виражену протисудомну дію. Дози, що викли-

кали у 50% тварин клоніко-тонічні судоми і тонічну екстензію, склали відповідно  $0,057 \pm 0,001$  і  $0,066 \pm 0,021$  мг/кг. Ці дані свідчать про високу протисудомну активність, що вірогідно не відрізняється від аналогічних показників у феназепаму [5, 6] та вказує на можливість його використання за короткочасних пароксизмів або короткочасної втрати свідомості при малих нападах (*petit mal*).

Визначення протисудомної активності за тестом максимального електрошоку показало, що  $ED_{50}$  препарату складає  $9,3 \pm 3,4$  мг/кг.  $ED_{50}$  циназепаму вірогідно не відрізняється від таких у феназепаму, для якого він складав  $11 \pm 2,8$  мг/кг [5, 6]. Ця модель демонструє потенціальну ефективність препарату при лікуванні моторних пароксизмів (*grand mal*).

Результати дослідження протисудомного ефекту циназепаму на моделі генералізованих клоніко-тонічних судом виявили характерну для транквілізаторів даного ряду гіперболічну (рис. 1) залежність від дози при внутрішньосудинному введенні в хвостову вену нелінійних мишей як зворотних агоністів ГАМК-медіаторної системи (бікукуліну, коразолу), так і гліциново-медіаторної системи (стрихніну).

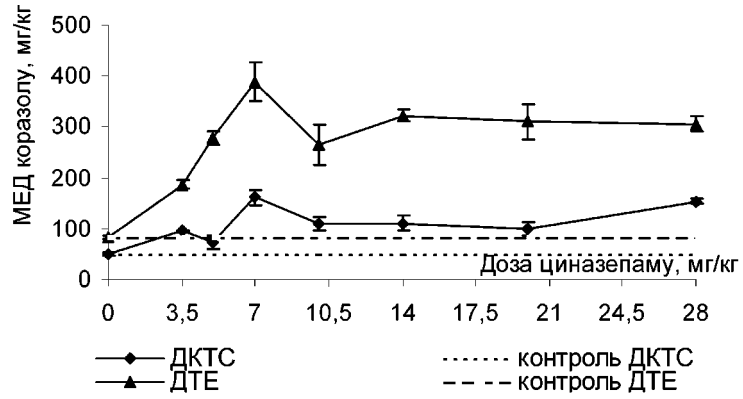
Криві "доза-ефект" для стрихніну були більш положистими, тобто спостерігалася більш плавна зміна мінімальних ефективних доз, ніж для коразолу і бікукуліну. Наприклад, у дозі 7 мг/кг циназепам вірогідно ( $P < 0,05$ ) змінював МЕД стрихніну в 1,2 рази, МЕД бікукуліну в 2,2 рази, а МЕД коразолу в 3,2 рази за клоніко-тонічних судом (КТС) і в 1,2; 2,1 і 4,7 рази відповідно за тонічної екстензії (ТЕ).

Лінеаризація кривих залежності "доза-ефект" у подвійних зворотних координатах, дала можливість визначити параметри даного процесу — величину максимально досяжного ефекту —  $ED_{max}$  і дозу ( $ED_{50}$ ), що викликає ефект у 50% експериментальних тварин.

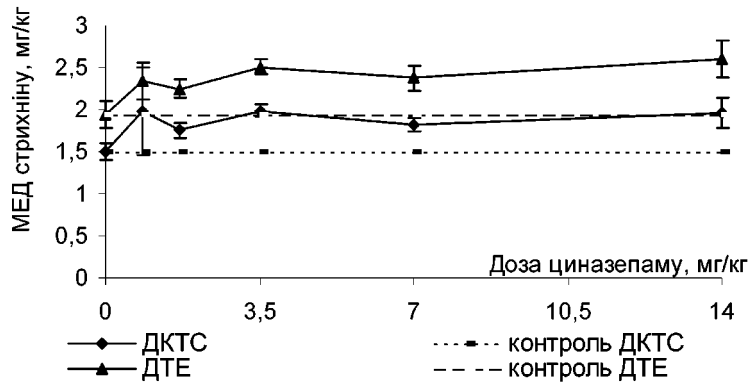
Як видно з проведених досліджень, циназепам не тільки не поступається за своєю протисудомною активністю феназепаму, але по  $ED_{max}$  і  $ED_{50}$  вірогідно ( $P < 0,05$ ) перевищує дані показники феназепаму за коразолових і бікукулінових клоніко-тонічних судом і тонічної екстензії (таблиця).

Порівняльний аналіз отриманих у роботі параметрів антиконвульсивної активності циназепаму з результатами досліджень із створенням судомного стану лігандами ГАМКА-медіаторної системи — коразолом і бікукуліном — показує, що введення циназепаму експериментальним тваринам викликає найбільший максимальний протисудомний ефект при судамах, викликаних введенням коразолу і бікукуліну у порівнянні з феназепамом.

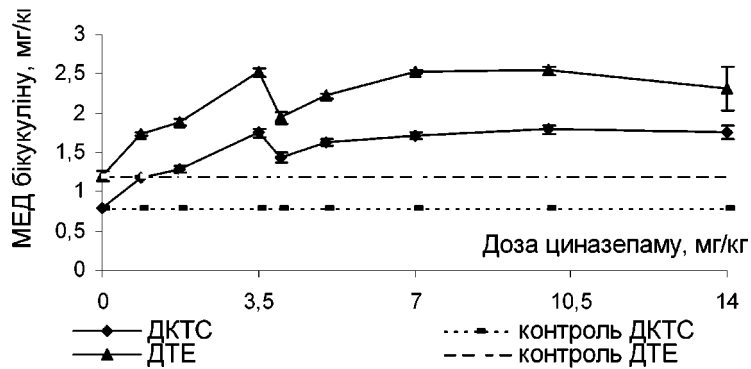
Це свідчить про більш високий ступінь конверсії рецепторно-лігандного комплексу в активний стан, тобто комплекс циназепаму з рецептором, коразолом (бікукуліном) і ГАМК має більш високу внутрішню активність, ніж даний комплекс зі стрихніном.



*a*



*б*



*в*

Рис. 1. Мінімальні ефективні дози (МЕД) коразолу (*a*), стрихніну (*б*), бікукуліну (*в*), що викликають клоніко-тонічні судоми (ДКТС) та тонічну екстензію (ДТЕ) за введення мишам зростаючих доз циназепаму

При аплікації стрихніну на кору головного мозку щурів циназепам, а також препарат порівняння володіли вираженим і достовірним протиепілептичним ефектом. Характерними рисами впливу циназепаму на епілептичні осередки, викликані стрихніном, є достовірне зниження часу існування епілептичного осередку з  $62,3 \pm 2,1$  хв до  $55,0 \pm 3,0$  та  $45,0 \pm 5,6$  хв для доз 7 і 14 мг/кг, відповідно, а також зниження частоти розрядів за відсутності змін їх амплітуди і рівнобіжне (щодо контролю) зменшення потужності осередків. Так площа під кривими сумарної потужності для циназепаму вірогідно зменшувалася приблизно в 1,7 рази і 1,8 рази для доз 7 і 14 мг/кг відповідно.

Таблиця

**Параметри динаміки протисудомного ефекту циназепаму та феназепаму за внутрішньосудинного введення мишам бікукуліну, коразолу і стрихніну**

Сполуки	ED <sub>max</sub>		ED <sub>50</sub>		(ED <sub>max</sub> - ED <sub>c</sub> ) / ED <sub>c</sub>	
	КТС	ТЕ	КТС	ТЕ	КТС	ТЕ
Стрихнін						
Циназепам	1,95± 0,11*	2,57± 0,16	1,06± 0,21	0,77± 0,14	0,80± 0,04**	0,65± 0,03
Феназепам	2,52± 0,19	2,81± 0,14	1,83± 0,32	1,07± 0,17	1,21± 0,11	0,59± 0,10
Коразол						
Циназепам	216,9± 11,96*	453,3± 49,61**	0,37± 0,07***	0,43± 0,19**	3,30± 0,54	4,5± 0,61***
Феназепам [5, 6]	185,34± 2,95	302,35± 2,65	0,23± 0,17	0,27± 0,07	2,30± 0,23	2,31± 0,02
Бікукулін						
Циназепам	1,96± 0,06***	2,80± 0,15	1,72± 0,11***	1,71± 0,40**	1,49± 0,05**	1,34± 0,09
Феназепам [5, 6]	1,51± 0,06	2,49± 0,01	0,12± 0,04	0,18± 0,06	1,15± 0,08	1,24± 0,06

Примітка: ED<sub>max</sub> — максимально можливий ефект, ED<sub>50</sub> — доза, що викликає ефект у 50% дослідних тварин, ED<sub>c</sub> — доза, що викликає ефект у контрольній групі дослідних тварин. Вірогідність за критерієм Ст'юдента відносно феназепаму: \* — P<0,05, \*\* — P<0,01; \*\*\* — P<0,001

Використання тіосемікарбазиду для створення пароксизмального стану показало, що так само, як і в попередній моделі, спостерігається прояв дії циназепаму на початкових етапах існування епілептичного осередку, зменшується тривалість і інтенсивність пароксизмальної активності, зникає циклічність процесу. Циназепам дозозалежно змінював час існування нападу з  $266,0 \pm 24,3$  хв до  $72,4 \pm 8,8$  і  $45,0 \pm 5,8$  хв для доз 7 і 14 мг/кг відповідно. Площу під кривими сумарної потужності епілептичних осередків циназепам зменшував у 4,5 і 4,9 рази.

Дисперсійний аналіз динаміки потужності епілептичних осередків за введення похідних 1,4-бенздіазепіну вказує на вірогідну різницю з контролем щодо середнього рівня перебігу процесів. Наявність достовірного фармако-логічного ефекту циназепаму у випадку осередкової епілепсії, який вірогідно не відрізняється від протисудомної дії феназепаму, свідчить про перспективність подальшого використання циназепаму як протисудомного засобу.

### Висновки

1. Циназепам виявляє високу протисудомну активність на моделях з різними механізмами формування судомних станів.
2. За деякими тестами циназепам не тільки не поступався, але й перевищував протисудомну дію феназепаму, що відкриває перспективу впровадження циназепаму в медичну практику.

### Література

1. Воронина Т. А., Середенин С. Б. Перспективы поиска новых анксиолитиков // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2002. — Т. 65, № 5. — С. 4–17.
2. Гидазепам / под ред. Андронати С. А. К.: Наукова думка. — 1992. — 157 с.
3. Андронати С. А., Якубовская Л. Н., Воронина Т. А., Яворский С. А. и др., Патент Украины № 19803 (1993).
4. Портер Р. Дж., Мелдрум Б. С. Противоэпилептические средства. В кн. Базисная и клиническая фармакология. М.: Бинум, СПб.: Невский диалект, 1998. — С. 443–467.
5. Фармакологічний аналіз рецепторно-лігандої взаємодії. Зінковський В. Г., Жук О. В., Головенко М. Я., та ін. Київ: Академперіодика, 2001. — 207 с.
6. Феназепам / Под ред. А. В. Богатского. — К.: Наукова думка, 1982. — 285 с.
7. Лекарственные средства. Биоскрининг / Под ред. А. В. Стефанова. К.: Авиценна, 1998. — 250 с.
8. Головенко Н. Я., Зинковский В. Г., Жук О. В., Силантьев С. А. Изодинамический анализ минимальных эффективных доз экзогенных лигандов ГАМК-рецепторного комплекса как метод оценки механизмов их взаимодействия с медиаторной системой головного мозга // Журнал АМН Украины. — 2000. — Т. 6, № 2. — С. 219–234.
9. Макулькин Р. Ф. Механизм образования и ликвидации комплексов эпилептической активности в коре головного мозга. Автореферат дисс. докт. мед. наук. — Москва, 1982. — 33 с.
10. Шандра А. А. К проблеме взаимоотношений между гиперактивными структурами в коре головного мозга // Автореферат дис. ... канд. мед. наук. — М., 1977. — 23 с.

11. *Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии. — М.: МГУ, 1980. — 285 с.
12. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 312 с.
13. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999. — 456 с.

**А. В. Майкова<sup>1</sup>, О. В. Жук<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,  
кафедра физиологии человека и животных,  
ул. Дворянская 2, Одесса, 65026, Украина. Тел.: (0482) 68-79-32

<sup>2</sup> Опольский университет,  
кафедра молекулярной и экспериментальной биологии,  
ул. Каминка, 4, Ополье, 45564, Польша

### **ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИНАЗЕПАМА НА МОДЕЛЯХ СУДОРОГ С РАЗНЫМИ МЕХАНИЗМАМИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ**

#### **Резюме**

Исследованы противосудорожные свойства нового отечественного транквилизатора 1,4-бенздиазепаинового ряда — циназепама. Выявлена высокая противосудорожная активность препарата, которая достоверно не отличалась от таковой феназепама — препарата сравнения, используемого в медицинской практике. Использование моделей судорог с разными механизмами формирования, которые адекватны клиническим типам припадков, позволяют предположить перспективность внедрения его в медицинскую практику для лечения моторных пароксизмов, генерализованных тонико-клонических судорог, малых припадков, очаговой эпилепсии.

**Ключевые слова:** циназепам, противосудорожная активность, экспериментальная эпилепсия.

**A. V. Maykova<sup>1</sup>, O. V. Zhuk<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Odessa National University, Department of Human and Animals Physiology, Dvoryanskaya st., 2, Odessa, 65026, Ukraine

<sup>2</sup> Opole University, Department of Molecular and Experimental Biology, Kaminka st., 4, Opole, 45564, Polish

**ANTICONVULSANT ACTIVITY CINAZEPAM OF THE MODEL SEIZURES WITH DIFFERENT MECHANISM OF FORMING**

**Summary**

Anticonvulsant characteristic of a new tranquilizer of the 1,4-benzodiazepine lines — cinazepam was carried out. It is revealed the high anticonvulsant activity of cinazepam. It for certain doesn't different from the comparative drug — phenazepam, using in medicine. Models of the seizures with different forming mechanism, that are identical to clinical type of the seizures, allow to suppose the perspective of introduction it into medicine for treatment of grand mal, generalized clonic-tonic seizures, petit mal, focal epilepsy.

**Keywords:** cinazepam, anticonvulsant activity, experimental epilepsy.