МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ЛУЦЕНКО РУСЛАН ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 615 : 547.47 : 616 – 092

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІН-3-ГЛІОКСИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНИХ НЕЙРОТРОПНИХ ЗАСОБІВ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана в Українській медичній стоматологічній академії МОЗ України, м. Полтава

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор
БОБИРЬОВ Віктор Миколайович,
Українська медична стоматологічна академія, МОЗ України (м. Полтава), завідувач кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
ШТРИГОЛЬ Сергій Юрійович,
Національний фармацевтичний університет, МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри фармакології та фармакотерапії

доктор медичних наук, професор
ЛУК'ЯНЧУК Віктор Дмитрович
головний науковий співробітник відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

доктор медичних наук, професор
ЖИЛЮК Володимир Іванович
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», завідувач кафедри фармакології і клінічної фармакології

Захист відбудеться «___» квітня 2021 року о 10^{00} годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «___» березня 2021 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д-р фарм. наук, професор К. Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Важливою складовою високого рівня якості життя і його повноцінності є психічне здоров'я й благополуччя людини (А. В. Іпатов і співавт., 2013). В останнє десятиліття майже в усіх розвинутих державах світу відмічається невпинне зростання різноманітної патології ЦНС. У країнах Європейського Союзу на неї припадає до 30 % від усієї кількості захворювань (S. Andreas et al., 2017). Близько чверті населення планети в різні періоди життя хворіли на психічні захворювання. В Україні більше 2 млн людей страждають від психічних розладів різного ступеня складності (Н. О. Марута і співавт., 2017). Провідним компонентом комплексу невротичних, пов'язаних зі стресом і соматоформних розладів є стани тривоги та страху (Н. О. Марута, С. П. Колядко, 2016). При цьому патогенетичні ланки таких станів, як тривога, страх, депресія, стресорні порушення, мають подібні риси та близьку нейробіологічну основу (A. Flores et al., 2018; A. V. Kalueff, D. J. Nutt, 2007; А. А. Яковлев и соавт., 2016).

Клінічна психіатрія та неврологія потребують створення лікарських засобів з багатокомпонентним спектром психотропної дії, оскільки психоемоційні розлади та тяжкі психічні захворювання мають високу гетерогенність, різноманітні клінічні прояви, хоча й обумовлені різними патогенетичними факторами (D. Suchecki, C. Elias, 2017; Н. О. Марута та ін., 2020). Тому актуальним є пошук і розробка нових препаратів, у психотропному спектрі яких поряд з вираженою анксіолітичною дією присутній антидепресивний компонент, а можливо, й органопротекторні властивості. При цьому потенційний засіб не повинен пригнічувати мнестичні процеси, викликати міорелаксацію, толерантність та інші небажані ефекти.

Перспективними в цьому аспекті є прості аміди та ефіри 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Гліоксилова кислота та її індольні гетероцикли нетоксичні. При комп'ютерному моделюванні фармакологічних властивостей вони здатні модифікувати активність циклічних нуклеотидів, виконувати роль антагоністів і модуляторів цАМФ та ініціювати каскад біохімічних перетворень різних ферментних систем (Т. Г. Садыков, А. Х. Абдулаев, 2001). На основі гліоксилової кислоти створено препарат «Гліосіз», що має виражені антигіпоксичні властивості завдяки гальмуванню аеробного метаболізму та активації анаеробних процесів (T. Otorii et al., 1980).

Наявний асортимент психотропних засобів не вирішує всіх питань, пов'язаних з патологічними процесами в ЦНС. Це свідчить про актуальність даної проблеми та необхідність вивчення нового класу сполук – похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти для створення на їх основі нових ефективних препаратів з широким спектром нейротропної дії.

Переважна більшість речовин, що взаємодіють з рецепторами в ЦНС, є циклічними азотовмісними гетеросистемами, до яких належать похідні 2-оксоіндолінів. Завдяки структурній спорідненості з серотоніном (5-НТ) похідні індолу здатні взаємодіяти з серотоніновими, зокрема 5-$НТ_{2A}$-рецепторами, α-адренорецепторами, дофаміновими D_2-рецепторами (S. B. Kamlendra et al., 2012). Індольні алкалоїди є агоністами μ-опіоїдних рецепторів (T. Kaserer et al., 2020), антагоністами $ГАМК_A$-рецепторів (H. A. Hazrulrizawati, 2017), рецепторів N-метил-D-аспартат-рецептори (NMDA) (R. Kenneth, 2001), оборотними інгібіторами ацетилхолінестерази (M. Paul, 2002). У похідних індолу показані антимікробні властивості (S. M. Basavarajaiah et al., 2010).

Ендогенні окиснені індоли – ізатин та його метаболіти – мають різноманітну біологічну та фармакологічну активність. У них виявлена протисудомна, анксіолітична, противірусна, протипухлинна, антибактеріальна, протитуберкульозна, протигрибкова та протизапальна активність та здатність інгібувати активність мітохондріальної моноаміноксидази (МАО) у головному мозку (A. Medvedev et al., 2007; Л. В. Веселовский, 2015). У дослідах *in vitro* встановлено, що ізатин є одним з найсильніших антагоністів передсердного натрійуретичного пептиду, гальмує ферменти, які активують оксид азоту, інгібує активність гуанілатциклази та виявляє нейропротекторні властивості (О. А. Бунеева и соавт., 2017; Г. В. Пономарев и соавт., 2011). В організмі кількість ізатину збільшується під час стресорного впливу, оскільки натрійуретичні пептиди знижують виділення гормонів стресу (M. Crumeyrolle-Arias et al., 2009). Цей регуляторний зв'язок може брати участь у підтриманні натрійуретичної сигналізації при стресі та вносити певний вклад у відповідь на стрес (А. Г. Глоба, 2008).

Також серед похідних індолу достатньо велика кількість лікарських препаратів, що мають нейротропну дію та широко застосовуються в клінічній практиці. До них належать нейролептик карбідин, сертиндол, резерпін, який спустошує запаси моноамінів у пресинаптичних терміналях і має антигіпертензивну та антипсихотичну дію, нестероїдний протизапальний засіб індометацин, противірусний засіб арбідол і багато інших. Підтвердженням доцільності вивчення цієї групи циклічних нітрогенвмісних гетеросистем є відомості, що до атипових анксіолітиків належить буспірон, для якого характерний серотонінергічний механізм дії (М. Д. Машковский, 2017).

У нових синтезованих похідних 2-оксоіндоліну встановлені антигіпоксичні, антиоксидантні, діуретичні, ноотропні, антидепресивні та гормоноподібні властивості (Е. Л. Березнякова та співавт., 2005; О. В. Шатілов і співавт., 2011; Н. А. Цубанова та співавт., 2011; О. В. Шатілов, 2012; А. Г. Сидоренко, 2016; І. І. Шевцов, 2020). Важливо, щоб препарати з таким спектром фармакологічної активності також чинили захисний вплив на внутрішні органи, які нерідко страждають при ушкодженні ЦНС. З урахуванням вищенаведеного актуальним є пошук нових ефективних і малотоксичних нейротропних засобів із супутніми органопротекторними властивостями серед похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава) «Пошук засобів із числа похідних 2-оксоіндолу, 3-оксипіридину та інших біологічно активних речовин для фармакотерапії адаптивних процесів при порушенні гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0111U004879) (2011–2016 роки) і «Фармакологічне дослідження біологічної активності речовин та лікарських засобів для корекції порушень гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0117U004681) (2017–2019 роки). Автор був безпосереднім співвиконавцем НДР.

Мета і завдання дослідження.

Мета роботи – експериментально обґрунтувати доцільність пошуку серед перспективних похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти сполук з нейротропною та органопротекторною дією, з'ясувати фармакологічні властивості та механізми дії сполуки-лідера.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Провести скринінг речовин у ряду простих ефірів і амідів 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на наявність анксіолітичної активності шляхом комп'ютерного прогнозування та аналізу емоційно-поведінкових реакцій тварин у специфічних етологічних тестах.

2. На основі лінійного дискримінантного аналізу визначити сполуку-лідера, встановити її гостру токсичність, середню ефективну дозу та терапевтичний індекс.

3. Провести поглиблений аналіз анксіолітичної дії сполуки-лідера при тривалому введенні на наявність толерантності та дослідити вплив на тонус скелетних м'язів і наркозний ефект тіопенталу-натрію.

4. Дослідити ефективність речовини-лідера при гострому іммобілізаційному стресі.

5. Шляхом нейрофармакологічного аналізу вивчити можливі механізми нейротропної дії найактивнішої сполуки з числа похідних 2-оксоіндоліну.

6. Встановити ефективність сполуки-лідера при курсовому профілактично-лікувальному введенні за умов експериментального неврозу.

7. Вивчити вплив сполуки-лідера на вміст моноамінів і продуктів їх метаболізму в інтактних щурів і за умов модельного неврозу.

8. З'ясувати роль системи ГАМК в реалізації анксіолітичної дії сполуки-лідера при експериментальному неврозі.

9. Визначити наявність антидепресивних і актопротекторних властивостей у похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти.

10. Дослідити можливу органопротекторну дію досліджуваної сполуки на моделях адреналінового міокардиту, тертахлорметанового гепатиту, етиленгліколевого та гліцерол-індукованого гострого ураження нирок.

11. Проаналізувати одержані результати, встановити механізми дії та обґрунтувати перспективність розробки нових нейротропних препаратів на основі похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти.

Об'єкт дослідження – пошук та доклінічне вивчення нових вітчизняних високоефективних і безпечних нейротропних засобів, фармакотерапія невротичних станів.

Предмет дослідження – нейротропні властивості, органопротекторна активність та механізми дії похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти.

Методи дослідження. Фармакологічні методи: системне прогнозування; поведінкові тести («відкрите поле», «піднесений хрестоподібний лабіринт», «чорно-біла камера», Порсолта, «підвішування за хвіст»), експериментальний невроз; адреналіновий міокардит, тетрахлорметановий гепатит, гліцерол-індукована нефропатія, гостре ураження нирок (ГУН) спричинене етиленгліколем, методи фармакологічного аналізу рецепторних систем (адренергічної, дофамінергічної, серотонінергічної, ГАМК-ергічної, олінергічної та Н-холінергічної); токсикологічні; функціональні (електрокардіографія) (ЕКГ); імуноферментні (визначення рівня моноамінів і ГАМК у крові; продуктів обміну моноамінів у сечі); біохімічні (стан процесів пероксидації, маркери видільної функції нирок, маркери цитолізу, обмін амінокислот, пуринів, білірубіну), визначення активності глутаматдекарбоксилази (ГДК) і ГАМК-трансамінази в тканинах головного мозку, гістологічні та методи математичної статистики та системного аналізу. Прогнозування

фармакологічної активності похідних 2-оксоіндоліну проводили за допомогою програми Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS), токсичність розраховували за програмою General Unrestricted Structure-Activity Relationships (GUSAR). Для визначення наявності анксіолітичної дії в сполук застосовували лінійний дискримінантний аналіз. Обробку результатів експериментальних досліджень здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel 12,0 та STATISTICA 6.1.

Наукова новизна отриманих результатів. Пріоритетним є тестування похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в комп'ютерних програмах PASS і GUSAR, на основі якого встановлено, що сполуки малотоксичні, можуть виявляти нейротропну (анксіолітичну, протисудомну, снодійну, ноотропну, антидепресивну), антигіпоксичну, протизапальну, протипухлинну, противірусну дію, впливати на 5-НТ-, ГАМК-, NMDA- і ANMP-рецептори та пригнічувати ГАМК-амінотрансферазу.

На основі комплексного аналізу емоційно-поведінкових реакцій у специфічних етологічних тестах проведено пошук речовин з анксіолітичною активністю серед похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти та виявлено найактивнішу сполуку (2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетамід, лабораторний шифр 18). Встановлена анксіолітична дія речовини 18 у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» характеризувалася вірогідним збільшенням кількості виходів щурів у відкритий рукав, часу перебування у відкритому просторі, кількості зазирань донизу з лабіринту та зменшенням кількості болюсів. У тесті «чорно-біла камера» ця дія сполуки підтверджувалася вірогідним зменшенням латентного періоду першого виглядання й виходу в освітлений відсік камери та збільшенням кількості виходів і часу перебування в освітленій частині установки, а також зменшенням відчуття страху в тесті «поведінка, що карається».

Розширено уявлення про токсикологічні властивості похідних 2-оксоіндоліну. Встановлено, що речовина 18 при внутрішньоочеревинному (в/о) введенні мишам за значенням LD_{50} (3250±159 мг/кг) належить до відносно нешкідливих речовин (VI клас токсичності). При внутрішньошлунковому введенні LD_{50} становила більше 3000 мг/кг, а за значенням терапевтичного індексу сполука 18 перевищувала діазепам у 14,8 разу.

Доповнено наукові дані про стреспротективну дію 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду, який запобігав негативним налідкам перебігу стрес-реакції, попереджав активацію процесів пероксидації в ЦНС і ефекторних органах, коригував обміну пуринів і білірубіну та позитивно впливав на психоемоційний стан тварин активніше за діазепам.

Поглиблено уявлення про фармакодинамічні властивості сполуки 18. Показано, що вона не викликає толерантності та міорелаксації на відміну від препарату порівняння діазепаму. Уточнено наукові дані про здатність сполуки 18 виявляти антагонізм до центрального α_2-адреноміметика клонідину, посилювати ефекти L-ДОФА. Отримано відомості, що речовина не потенціює ефекти малих доз 5-окситриптофану (50 мг/кг), однак зменшує кількість хитань головою при комбінованому введенні з попередником 5-НТ (300 мг/кг), тобто виявляє антисеротонінову дію.

Вперше встановлена холіноблокувальна активність, що може бути однією з складових анксіолітичної дії сполуки-лідера. Показано, що речовина 18 активує ГАМК-ергічну нейротрансмісію, що підтверджувалося збільшенням тривалості латентного періоду початку судом, зменшенням кількості, тривалості, інтенсивності

конвульсій і летальності щурів, що викликали пентилентетразол і пікротоксин.

Пріоритетними є дослідження ефективності сполуки 18 при експериментальному неврозі, що виявлялось у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» збільшенням кількості виходів щурів у 2,7 разу ($p<0,001$), часу перебування у відкритій частині лабіринту в 1,9 разу ($p<0,001$) та позитивним впливом на інші показники. У тесті «чорно-біла камера» під дією сполуки вірогідно зменшувався латентний період першого виходу тварин і кількість виходів у 1,3 разу та 1,6 разу відповідно, а також покращувались інші показники. Також ця речовина коригувала харчову поведінку щурів, збільшувала кількість підходів до поїлки із сахарозою в 1,4 разу та збільшувала об'єм випитого розчину цукру в 1,3 разу.

Отримано нові відомості про участь моноамінів у захисній дії сполуки 18 при експериментальному неврозі, що підтверджувалося зменшенням рівня адреналіну й збільшенням норадреналіну та дофаміну в плазмі крові в середньому в 1,4 разу ($p<0,01$), підвищенням рівня 5-НТ у 2,0 рази ($p<0,002$) у сироватці крові та зменшенням вмісту ГВК в 1,4 разу, ВМК в 1,3 разу ($p<0,02$) і 5-ОІОК в 1,5 разу ($p<0,01$) у сечі. Поглиблені уявлення про участь системи ГАМК у реалізації протективної дії сполуки 18 при експериментальному неврозі, що підтверджувалося вірогідним зниженням вмісту глутамінової кислоти в 1,5 разу, підвищенням вмісту ГАМК у 2,1 разу, активності ГДК в 1,3 разу та нормалізацією активності ГАМК-Т у тканинах головного мозку.

Доповнено наукові дані про антидепресивні властивості похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, що виявлялись у тесті Порсола і тесті «підвішування за хвіст» і тривали щонайменше 24 год, а в окремих сполук перевищували активність препарату порівняння іміпраміну.

Отримано нові відомості про те, що похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти виявляють актопротекторну активність. При аналізі тривалості плавання щурів за умов нормо-, гіпо- та гіпертермії виявлені сполуки-лідери, дія яких зіставлювана з такою в етилтіобензімідазолу.

Вперше показана кардіопротекторна дія сполуки 18 на моделі адреналінового міокардиту, за якою вона перевищувала дію етилметилгідроксипіридину сукцинату, за позитивним впливом на електрокардіографічні показники (тривалість PQ, QT, P, T і систолічний показник), біохімічні маркери функціонального стану і морфологічні параметри серцевого м’язу. Встановлена гепатопротекторна дія речовини 18 на рівні такої в етилметилгідроксипіридину сукцинату, що підтверджувалася вірогідним зменшенням відносної маси печінки в 1,2 разу, активності АлАТ і АсАТ у 1,6 разу і в 1,7 разу в сироватці крові, покращенням обміну білірубіну та зменшенням дистрофічних проявів в органі. Уточнено дані стосовно відсутності нефропротекторного впливу сполуки 18 при експериментальній патології нирок.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведеного дослідження обґрунтовують доцільність створення на основі похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти лікарських засобів, що виявляють анксіолітичні, антиоксидантні, антидепресивні, протисудомні та актопротекторні властивості. Встановлені позитивні полінейротропні та органопротекторні властивості дають можливість уникнути поліпрагмазії та коригувати більшість патогенетичних ланок захворювань ЦНС. Отримані дані доцільно використовувати для подальшого цілеспрямованого синтезу

нових похідних 2-оксоіндоліну з необхідними фармакологічними властивостями та при пошуку серед них нових ефективних і безпечних нейротропних препаратів.

Підтверджено практичне значення дисертаційної роботи інформаційними листами про нововведення в системі охорони здоров'я України: «Інноваційні перспективи застосування похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в якості анксіолітичного засобу» (2014) та «Інноваційні перспективи застосування похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в якості антидепресивного засобу» (2015).

Результати наукових досліджень покладено в основу двох галузевих нововведень, що включені до «Переліку наукової (науково–технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я»: «Застосування похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як засобів з актопротекторною дією»; «Спосіб застосування N-(1-нафтил)аміду-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти для фармакологічної корекції порушень, індукованих гострим стресом». Розроблено та впроваджено в практику науково-методичний підхід пошуку засобів для лікування депресивних розладів, що ґрунтується на оптимізації дослідження специфічної активності потенційних антидепресантів і висвітлені в методичних рекомендаціях «Експериментальне вивчення нових антидепресивних засобів» (Київ, 2014).

Результати дисертації впроваджено в науково-педагогічний процес на кафедрі фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 6 від 17.02.2016 р.), кафедрі фармакології, клінічної фармакології та фармації ДЗ «Луганський державний медичний університет» (м. Рубіжне) (протокол № 10 від 16.05.2019 р.), кафедрі клінічної фармакології та внутрішньої медицини Харківського національного медичного університету (від 11.02.2019 р.), кафедрі патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету (протокол № 10 від 25.04.2019 р.), кафедрі фармакології, клінічної фармакології, патофізіології ПВНЗ «Київський медичний університет» (протокол №4 від 29.05.2019 р.) та кафедрі фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету ім. Горбачевського (протокол № 6 від 06.06.2019 р.).

Практичне значення підтверджується трьома патентами України на винахід № 89551 (2010); № 92646 (2010); № 106105 (2014).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Здобувач є автором основної ідеї роботи, особисто виконав інформаційно-патентний пошук за темою дисертації, проаналізував джерела літератури, сформулював мету та завдання досліджень, спланував методичні підходи, згідно з якими відібрані моделі та методи для виконання експериментальної частини дисертації.

Автор особисто виконав переважну більшість експериментальної роботи, провів аналіз, систематизацію та статистичну обробку одержаних результатів.

Дослідження рівня моноамінів у крові при експериментальному неврозі виконані на базі НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» сумісно з науковим співробітником канд. біол. наук Микитюк М. В. Гістологічні дослідження проведено за допомоги к. біол. н., ст. н. співроб. ЦНДЛ НФаУ Ю. Б. Лар'яновської. Автор висловлює щиру вдячність цим фахівцям. Дисертація не містить матеріалів та висновків кандидатської дисертації здобувача («Попередження ушкоджень печінки

при гострому стресі за допомогою нейротропних засобів», Київ, 2003), дисертації: Колісник С. В. Синтез, властивості та біологічна активність похідних 2-(2-оксоіндолін-3-іліден)оцтових кислот: дис. … д-ра фарм. наук: 15.00.02/НФаУ. Х., 2012. 420 с. та Сидоренко А. Г. Пошук антидепресантів серед похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксинової кислоти: дис. … канд. мед. Наук: 14.03.05/ НФаУ. Х., 2016. 185 с. Співавторами наукових праць є науковий консультант та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Особисту участь у кожному дослідженні наведено в списку опублікованих праць за темою дисертації.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології «Досягнення та перспективи клінічної фармакології» (Вінниця, 12–13 травня 2008), XII Конгресі Світової федерації українських лікарських товариств (Івано-Франківськ-Київ-Чикаго, 25–28 вересня 2008); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука - 2010» (Полтава, 16-17 грудня 2010); XIII Конгресі Світової федерації українських лікарських товариств (Львів-Київ-Чикаго, 30 вересня – 2 жовтня 2010); XVII Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, Росія, 12–16 квітня 2010); VII з'їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 15–17 вересня 2010); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Інноваційні технології у експериментальній медицині та біології» (Полтава, 6–7 травня 2010); IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 10–12 жовтня 2011); Науково-практичній конференції «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Новий Світ, Крим, 23–28 травня 2011); International Conference Pharmacology «Targeting cellular regulatory systems» (Riga, Latvia, 20–21 квітня 2012); Всеукраїнській науково-методичній конференції «Інноваційні технології в медицині. Проблеми та їх вирішення» (Полтава, 23 березня 2012 р.); Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 21–22 березня 2013); Конференції «Фармакологическая нейропротекция 2013» (Санкт–Петербург, Росія, 18–21 вересня 2013); Науково-практичній конференції «Актуальні питання безпечного застосування ліків» (Тернопіль, 17–18 жовтня 2013); Третій науково-практичній конференції «Безопасность и нормативно-правовое сопровождение лекарственных средств: от разработки до медицинского применения», присвяченій пам'яті д-ра мед. наук, проф. Викторова Алексея Павловича (Київ, 23–24 жовтня 2013); Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інтернаціоналізація вищої медичної освіти: науково-методичні засади освіти іноземних громадян у вищих медичних навчальних закладах» та «Жутаєвські читання» (Полтава, 14–15 березня 2013); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука – 2013» (Полтава, 2013); I науково-практичній конференції: Ліки-людині «Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 30–31 березня 2017); V з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017); Науково-практичній конференції, присвяченій 80-річчю від дня народження доктора медичних наук, професора Тарасенко Л. М (Полтава, 7 листопада 2017), II науково-практичній конференції з міжнародною участю (Харків, 21 листопада 2019).

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи викладено у 48 наукових працях, з яких: 23 статті в наукових фахових виданнях, з яких 7 статей у міжнародних

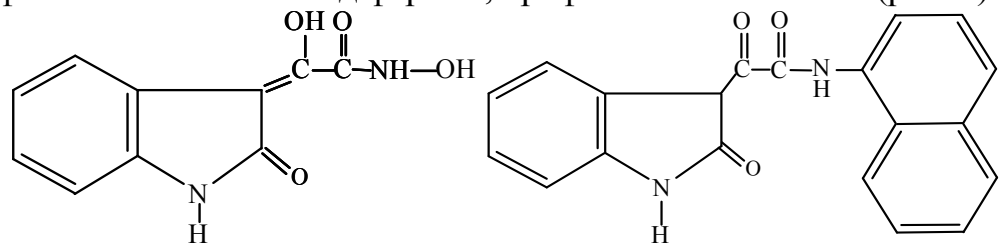
виданнях, 4 – цитуються наукометричною базою SCOPUS, 6 є моностаттями. Отримано 3 патенти України на винахід, 16 тез доповідей, видано 2 інформаційні листи, 3 нововведення та методичні рекомендації.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 442 сторінках комп'ютерного друку та містить анотації українською та англійською мовами, список друкованих праць, вступу, огляду літератури, розділ «Матеріали та методи дослідження», 6 розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки, переліку використаних джерел літератури, в якому наведено посилання на 595 джерел (168 – кирилицею, 428 – латиницею) та 3 додатків. Дисертація ілюстрована 51 таблицею та 47 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Об'єкти та методи досліджень. Робота виконана на базі наукової лабораторії кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава. Для експериментів використані 1572 білих щурів обох статей лінії Вістар масою 150–250 г і 100 нелінійних білих мишей масою 18–20 г. Дотримання біоетичних норм засвідчено комісією з біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (протокол №86 від 21.09.2010 року). Медико-біологічні та імуноферментні дослідження виконувалися на базах лабораторії кафедри експериментальної та клінічної фармакології, акредитованого віварію (експериментально-біологічної клініки), НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Української медичної стоматологічної академії та Обласного Бюро судово-медичної експертизи ДОЗ Полтавської державної обласної адміністрації.

Нейротропну активність досліджували у 24 сполук із числа похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти з групи амідів (2, 18, 15, 1-В, 2-Т, 1-Ф, К, Г, 3.85, 38, 17/92, 942, БСК-13, М, ІК, Гіп-1, 18-4, 18-5, БСК-39) та естерів (ГАК, ІЕ, Е-38, 1425 та 1407), що синтезовані в Національному фармацевтичному університеті, м. Харків, д.фарм.н., проф. Болотовим В. В. та д.фарм.н., проф. Колісником С. В. (рис. 1).



(а) (б)

Рис. 1. Базова структура 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти (а) та сполуки-лідера 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл–2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду

У кожній експериментальній групі було по 10 тварин, при розрахунку ефективної дози, кардіо- і нефропротекторної дії – 6 тварин , а при моделюванні неврозу 8 тварин у групі. Контролем слугувала група тварини, яким в/о вводили 0,9 % розчин натрію хлориду з однією краплею «Твін-80» (Lauropan, Італія) щурам в об'ємі 0,5 мл, мишам – 0,1 мл. При експериментальному неврозі контрольна група отримувала внутрішньошлунково 0,3 мл 0,9% розчину натрію хлориду з 1–2 краплями «Твін-80» кожні 3 доби протягом 30 днів. Дизайн проведених досліджень наведений на рисунку 2.

Сполуки *ex tempore* суспендували у воді для ін'єкцій з емульгатором «Твін-80» (1 крапля на 25 мг речовини) і вводили в дозі 12 мг/кг маси тіла в/о за 1 год до початку тестування (М. Є. Березнякова та співавт., 2005, С. Ю. Штриголь та співавт., 2008).

При експериментальному неврозі сполуку 18 суспендували ex tempore у 0,9 % розчині натрію хлориду з однією краплею «Твін-80» і вводили щурам у дозі 12 мг/кг внутрішньошлунково за 1 год до початку впливу стресорів і кожні 3 доби протягом 30 днів формування неврозу і аналогічно застосовували діазепам (2 мг/кг).

При скринінгу біологічної активності похідних 2-оксоіндоліну в комп'ютерних програмах PASS, GUSAR, поведінкових тестах і при дослідженні анксіолітичної дії та її механізмів як препарат порівняння використовували діазепам («Реланіум», розчин для ін'єкцій по 2 мл (10 мг), «Polfa» Tarchomin Pharmaceutical Works S. A., Польща) у дозі 2 мг/кг (О. В. Стефанов і співавт., 2001). При вивченні антидепресивної активності препаратом порівняння був іміпрамін («Меліпрамін» розчин для ін'єкцій, 2 мл (25 мг), «Egis Pharmaceuticals PLC», Угорщина) у дозі 25 мг/кг. Актопротекторну активність порівнювали з субстанцією етилтіобензімідазолу (50 мг/кг), що синтезована на експериментальному заводі Інституту органічної хімії НАН України. Їх вводили тваринам в/о за 1 год до початку експерименту (D. Meltzerl, P. Fox, 1971). Органопротекторну дію сполуки 18 порівнювали з етилметилгідроксипіридину сукцинатом («Армадин», розчин для для ін'єкцій, 50 мг/мл, ЗАТ «Лекхім-Харків», Україна).

На етапі скринінгу використовували тест «відкрите поле» (Я. Буреш и соавт., 1991), «піднесений хрестоподібний лабіринт», «чорно-біла камера», тест «поведінка, що карається» (Р. У. Хабриев, 2005), тест Порсолта (R. D. Porsolt et al., 1977) і тест «підвішування за хвіст» (Л. О. Громов та ін., 2015; A. J. Greenshaw et al., 1988).

Кардіопротекторну дію сполуки 18 вивчали при внутрішньочеревинному введенні в лікувально-профілактичному режимі за 30 хв до та через 1 год після розвитку адреналінового міокардиту в щурів, що моделювали одноразовим підшкірним уведенням розчину адреналіну гідротартрату («Адреналін-Дарниця», розчин для ін'єкцій, 1,8 мг/мл, ФК «Дарниця», Україна) у дозі 1 мг/кг (О. В. Стефанов і співавт., 2001), оцінювали за впливом на показники ЕКГ, активністю креатинінфосфокфнази серцева фракція (КК-МВ) «DAC-SpectroMed s.r.l.» (Молдова), АсАТ та АлАТ, коефіцієнтом маси (КМ) серця, вмістом ТБК-АП (В. Б. Гаврилов и соавт., 1987), активністю супероксиддисмутази (СОД) (Т. В. Сирота, 1999), каталази (М. А. Королюк и соавт., 1988). Гепатопротекторну дію сполуки 18 (профілактичний режим один раз на день протягом трьох днів) вивчали на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту (О. В. Стефанов і співавт., 2001) і верифікували за виживаністю щурів (%), КМ печінки, часом настання тіопенталового наркозу, за активністю АлАТ (ммоль/ч·л) і АсАТ (ммоль/ч·л), вмістом загального білірубіну (мкмоль/л) та його фракцій («Пліва-Лахема» Чехія) у сироватці крові. Нефропротекторну дію сполуки 18 за умов гліцерол-індукованого ГУН у щурів (С. Ю. Штриголь, 2009) оцінювали за вмістом у плазмі крові креатиніну та сечовини, в сечі за швидкістю клубочкової фільтрації, реабсорбцією води, екскрецією креатиніну, сечовини та білка. На моделі етиленгліколь-індукованої ГУН у мишей досліджували вплив сполуки 18 на інтегральний показник – виживаність (С. Ю. Штриголь та співавт., 2009). Для морфологічного дослідження тканин міокарда, печінки і нирок використовували уніфіковані методи світлової мікроскопії.

Рис. 2. Дизайн проведення фармакологічних досліджень

Гостру токсичність сполуки-лідера при в/о і внутрішньошлунковому введенні вивчали на білих мишах. Розрахунок LD_{50} проводили за методом Кербера (В. Б. Прозоровський и соавт., 1978). Оцінку токсичності здійснювали за класифікацією К. К. Сидорова (1973). Розраховували середню ефективну дозу (ED_{50}) сполуки 18 (1, 3, 6, 12, 24, 48 мг/кг) за методом Кербера. Міорелаксуючу активність вивчали в тесті «вертикальний екран» (Р. У. Хабриев, 2005), антидепресивну - у тестах Порсолта (R. D. Porsolt et al., 1977) і «підвішування за хвіст» (Л. О. Громов і співавт., 2015). Досліджували актопротекторну за умов нормотермії у воді при t=24-26 °С з додатковим навантаженням 10% від маси, фрігопротекторну (+10 °С) і термопротекторну (+40 °С) дії. Визначали час плавання щурів до занурювання (Р. У. Хабриев, 2005). Встановлювали вплив сполуки-лідера на наркозний ефект тіопенталу-натрію (А. В. Стефанов и соавт., 1998). Вивчали збереження ефектів сполуки-лідера при тривалому введенні (30 діб) за тестами «поведінка, що карається» і «піднесений хрестоподібний лабіринт». Досліджували стреспротекторні властивості сполуки 18 при одноразовому профілактичному введенні щурам за 1 год до початку відтворення гострого іммобілізаційного стресу за Сельє (П. Д. Горизонтов и соавт., 1983). Евтаназію здійснювали через 1,5 год після стресу під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг, в/о). Визначали КМ надниркових залоз, тимусу, частоту виразково-ерозивних ушкоджень слизової оболонки шлунку та множинність (В. М. Виноградов, 1983). При стресі досліджували вплив сполуки 18 на емоційно-поведінкові реакції щурів у тестах: «відкрите поле», «піднесений хрестоподібний лабіринт» і «поведінка, що карається», на вміст ТБК-АП (В. Б. Гаврилов и соавт., 1987), активність СОД (Т. В. Сирота, 1999), каталази (М. А. Королюк и соавт., 1988) у гомогенатах головного мозку, міокарда, печінки та нирок щурів. У сироватці крові визначали вміст сечовини (ммоль/л), сечової кислоти (мкмоль/л), креатиніну (мкмоль/л), загального білірубіну (мкмоль/л) та його фракцій реактивами фірми «Пліва-Лахема» (Чехія) стандартними уніфікованими методами.

Проводили фармакологічний аналіз центральних механізмів нейротропної дії сполуки-лідера при взаємодії з дофамінергічною нейромедіаторною системою на тлі ефектів галоперидолу (1 мг/кг, «Gedeon Richter», Угорщина) (О. В. Стефанов та співавт., 2001), апоморфіну (10 мг/кг, «Sigma-Aldrich», США) (М. Д. Машковский и соавт., 1983) і L-ДОФА (100 мг/кг і 500 мг/кг, «Sigma-Aldrich», США); адренергічною системою при застосуванні з клонідином («Клофелін-М», розчин для ін'єкцій 0,01% по 1 мл, ТОВ «ХФП «Здоров'я народу», Україна) (М. Д. Машковский и соавт., 1983); серотонінергічною системою при застосуванні 5-окситриптофану (50 мг/кг і 300 мг/кг, «Sigma-Aldrich», США) (А. В. Стефанов и соавт., 1998); ГАМК-ергічною системою на тлі дії субстанції пентилентетразолу («Sigma-Aldrich», США) у дозі 80 мг/кг маси тіла та пікротоксину («Sigma-Aldrich», США) (5 мг/кг) («Sigma-Aldrich», США); холінергічною системою при введенні нікотину (0,1 мг/кг, «Sigma-Aldrich», США) і ареколіну (15 мг/кг, «Sigma-Aldrich», США).

Експериментальний невроз (30 діб) моделювали шляхом «конфлікту аферентних збуджень», що полягав у дії стресорів: світло від електричної лампочки 300 Вт, звуковий подразник інтенсивністю 60 дБ та електричний струм порогової величини крізь підлогу (В. Ц. Болотова, В. А. Крауз, 2014). Щурів піддавали дії стресорів 120 хв безперервно щодня. Проводили тест споживання 10% розчину сахарози (G. S. Dichter, 2010). Визначали вплив речовини 18 на вміст моноамінів (адреналіну, НА, ДА в плазмі

та 5-НТ у сироватці крові при неврозі та в інтактних тварин за допомогою наборів фірм «TriCat TM ELISA» IBL International GmbH (Germany) і «Serotonin EIA» Demeditec Diagnostics GmbH, (Germany), а також визначали вміст ГАМК у сироватці крові (Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG, Німеччина). У сечі визначали вміст метаболітів моноамінів: гомованілінової кислоти (ГВК) («HVA TM ELISA» Labor Diagnostika Nord GmbH, Німеччина), ванілілміндальної кислоти (ВМК) («VMA TM ELISA», Labor Diagnostika Nord GmbH, Німеччина), а також 5-оксиіндолоцетову кислоту (5-ОІОК) («5-HIAA TM ELISA» Labor Diagnostika Nord GmbH, Німеччина). Стан ферментних систем обміну катехоламінів розраховували за співвідношенням продуктів реакції до їх попередників: ГВК/ДА, НА/ДА, А/НА і ВМК/(НА+А) і 5-ОІОК/ 5-НТ.

Статистичну обробку проводили за допомогою програми Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., США), визначали нормальність розподілу за критерієм W Шапіро-Вілка. При нормальному розподілі використовували дисперсійний аналіз ANOVA, дані виражали як (M±m). За відсутності такого застосовували непараметричний U-критерій Манна-Вітні, результати представляли як медіана (Me) та інтерквартильний розмах (25–75 процентилі), альтернативні показники (виживаність) – за кутовим перетворенням φ Фішера та критерієм χ^2. Обчислювали коефіцієнти попарної лінійної кореляції r між показниками при неврозі, оцінювали їх вірогідність. Аналізували сильні кореляції, де $r \geq |0,7|$. Відмічали частку цих кореляцій серед усіх елементів кореляційної матриці. Оцінювали роль окремих показників у формуванні кореляційної матриці. Для встановлення ефективності сполук і порівняння з діазепамом використовували лінійний дискримінантний аналіз (Н. С. Лапач и соавт., 2000). За еталонний ефект дії приймали параметри щурів, яким уводили діазепам, що формувало перший клас. Другий клас утворювали показники інтактних тварин. Якщо показники сполуки потрапили до одного класу з діазепамом, то вона вважалась ефективною (В. Я. Гельман, 2001).

Результати та їх обговорення. ***Скринінг анксіолітичної дії похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти***. Прогноз фармакологічної активності похідних 2-оксоіндоліну в комп'ютерних програмах PASS і GUSAR (10.1) показав, що вони нетоксичні, можуть виявляти анксіолітичну, снодійну, ноотропну антидепресивну, антигіпоксичну, противірусну, протисудомну, протипухлинну активності, впливати на ГАМК-рецептори, 5-НТ-рецептори, пригнічувати ГАМК-амінотрансферазу й не є потенційними мутагенами, тератогенами та канцерогенами. В експериментальних тварин у тесті «відкрите поле» речовина 1-Ф вірогідно подовжувала латентний період першого переміщення. Сполуки 18, 15, 1-Ф, 38, 942, М, ІК, і 1425 зменшували кількість стійок подібно діазепаму. Речовини 1-В, Г, 3.85, 942, М, 18-4, 18-5, ІК, 1425 і діазепам збільшували кількість виходів у центр. Сполуки 18, 15, 1-Ф, К і Гіп-1 зменшували кількість перетнутих квадратів. Речовина 1-В підвищувала рухову активність. Сполуки 18, 1-Ф і 3.85 зменшували, а речовини М і Гіп-1 збільшували кількість болюсів. Акти грумінгу зменшували сполуки 15, 1-Ф, 3.85, 38, М, ІК, Гіп-1 і діазепам. Таким чином, більшість похідних 2-оксоіндоліну пригнічували або не впливали на орієнтовно-дослідницькі реакції. На цьому тлі пригнічення емоційності свідчить про зменшення в щурів тривоги та страху за умов стресової ситуації помірної аверсивності.

У тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» сполука 2 збільшувала кількість зазирань у відкриті рукава в 1,7 разу ($p<0,001$) і кількість зазирань до низу в 1,5 разу ($p<0,01$). Сполука 18 збільшувала кількість виходів у відкриті рукава в 1,5 разу

(p<0,001) і час перебування у відкритому просторі в 2,7 разу (p<0,001) (табл. 1). Ця речовина вірогідно збільшувала кількість зазирань до низу та зменшувала кількість болісних кульок у 1,9 разу. Сполуки 15 і 1-Ф лише вірогідно зменшували кількість болюсів. Речовини К і Г зменшували кількість виходів у відкриті рукава в 2,4 разу (p<0,001). Сполука К вірогідно збільшувала кількість зазирань у відкриті рукава, сполука Г зменшувала кількість зазирань до низу та обидві речовини зменшували кількість болюсів відповідно в 1,7 і 1,8 разу. Сполуки 3.85 і Гіп-1 вірогідно зменшували кількість виходів у відкритий рукав і кількість болюсних кульок. Речовина 3.85 зменшувала кількість зазирань донизу в 1,5 разу (p<0,001), а Гіп-1 збільшувала – в 1,7 разу (p<0,001). Сполука М зменшувала кількість болюсів у 1,3 разу (p<0,05). Речовина ІК зменшувала кількість виходів у відкриті рукава, зазирань до низу та болюсів у середньому в 1,4 разу (p<0,05). Отже, збалансований анксіолітичний вплив за умов ситуаційної тривоги виявляла сполука 18 (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на показники тривожності щурів у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» (M±m, n=10)

Сполука, доза	Кількість виходів у відкритий рукав	Час перебування у відкритому рукаві, с	Кількість зазирань у відкриті рукави	Кількість зазирань донизу	Кількість болюсів
Інтактний контроль	3,7±0,50	29,3±3,11	4,0±0,44	7,1±0,44	5,43±0,24
Контроль на ін’єкцію	3,9±0,23	26,1±2,28	3,9±0,31	7,4±0,45	5,30±0,20
Діазепам, 2 мг/кг	6,0±0,44*,**	54,1±3,51*,**	4,6±0,31	7,6±+0,44	2,2±0,13*,**
Сполука 2, 12 мг/кг	3,6±0,34$^{\#}$	24,7±2,01$^{\#}$	3,6±0,27	6,8±0,55	4,90±0,35$^{\#}$
Сполука 18, 12 мг/кг	5,7±0,37**	69,7±4,72*,**	3,9±0,31	8,2±0,44	2,80±0,29*,**
Сполука 15, 12 мг/кг	3,4±0,27$^{\#}$	29,2±1,87$^{\#}$	1,9±0,18$^{*,**,\#}$	3,8±0,29$^{*,**,\#}$	3,11±0,39$^{*,**,\#}$
Сполука 2-Т, 12 мг/кг	1,8±0,38$^{*,**,\#}$	26,6±1,66$^{\#}$	1,8±0,24$^{**,\#}$	3,2±0,38$^{*,**,\#}$	1,6±0,16$^{*,**,\#}$
Сполука 1-Ф, 12 мг/кг	4,4±0,37$^{\#}$	27,9±2,31$^{\#}$	2,8±0,25*,**	4,8±0,61*,**	3,20±0,35$^{**,\#}$
Сполука К, 12 мг/кг	1,6±0,27$^{**,\#}$	29,7±1,78$^{\#}$	4,0±0,36	4,2±0,32$^{*,**,\#}$	3,21±0,25$^{*,**,\#}$
Сполука Г, 12 мг/кг	1,6±0,21$^{**,\#}$	31,3±1,97$^{\#}$	2,8±0,29$^{*,**,\#}$	2,5±0,31$^{*,**,\#}$	2,9±0,17$^{*,**,\#}$
Сполука 3.85, 12 мг/кг	3,3±0,15$^{**,\#}$	30,3±1,23$^{\#}$	2,2±0,25$^{*,**,\#}$	3,0±0,33$^{*,**,\#}$	3,5±0,43$^{*,**,\#}$
Сполука, 38, 12 мг/кг	3,7±0,26$^{\#}$	24,1±2,13$^{\#}$	2,8±0,35$^{*,**,\#}$	4,1±0,35$^{*,**,\#}$	4,9±0,23$^{\#}$
Сполука М, 12 мг/кг	2,5±0,26$^{**,\#}$	32,3±3,66$^{\#}$	3,3±0,26$^{\#}$	3,8±0,29$^{*,**,\#}$	4,0±0,52$^{*,**,\#}$
Сполука ІК, 12 мг/кг	2,9±0,35$^{**,\#}$	22,5±1,02$^{\#}$	1,8±0,24$^{*,**,\#}$	3,0±0,39$^{*,**,\#}$	3,5±0,34$^{*,**,\#}$
Сполука Гіп-1, 12 мг/кг	2,2±0,32$^{**,\#}$	26,7±1,18$^{\#}$	2,2±0,32$^{*,**,\#}$	7,4±0,48	3,40±0,16$^{*,**,\#}$

Примітки:

1. * – відхилення вірогідно щодо групи інтактний контроль, p<0,05;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контроль на ін’єкцію, p<0,05;
3. # – відхилення вірогідно щодо препарату порівняння, p<0,05;
4. n – кількість тварин у кожній групі.

У тесті «чорно-біла камера» під впливом речовини 18 зменшувався латентний період першого визирання щурів в освітлений відсік камери в 1,4 разу (p<0,01) і збільшувалися кількість і час виглядання (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на показники тривожності щурів у тесті «чорно-біла камера» (M±m, n=10)

Сполука, доза	Виглядання у світлий відсік				Виходи в освітлений відсік				Кількість болюсів
	латентний період першого визирання, с	кількість визирань	час визирань, с	% тварин, що визирали	латентний період першого виходу, с	кількість виходів	час перебування у світлому відсіку, с	% тварин, що виходили	
Інтактний контроль	64,7±8,23	1,71±0,39	3,21±0,31	40	100,2±12,0	1,33±0,33	11,3, ±1,12	30	4,51±0,31
Контроль на ін’єкцію	51,2±5,76	1,40±0,16	3,17±0,34	40	91,7±8,74	1,33±0,33	13,4±0,94	30	4,30±0,37
Діазепам, 2 мг/кг	36,3±3,24*,**	3,41±0,28*,**	3,72±0,34	80	42,7±5,49*,**	2,19±0,16*,**	40,4±1,47*,**	90	2,1±0,18*,**
Сполука 2, 12 мг/кг	49,8±3,47$^{\#}$	1,50±0,29$^{\#}$	3,58±0,25	40	102,8±5,15$^{\#}$	1,5±0,29	10,3±0,85$^{\#}$	40	3,67±0,3
Сполука 18, 12 мг/кг	31,7±1,83*,**	3,22±0,27**	3,67±0,28	80	58,6±6,27*,**	2,27±0,13*,**	25,2±2,11$^{**,\#}$	80	2,18±0,23*,**
Сполука 15, 12 мг/кг	53,2±4,01$^{\#}$	1,40±0,25$^{\#}$	3,5±0,17	50	94,8±3,97$^{\#}$	1,25±0,25$^{\#}$	13,3±1,32$^{\#}$	40	3,20±0,33*,**
Сполука 2-Т, 12 мг/кг	66,2±7,09$^{\#}$	1,20±0,2$^{\#}$	4,8±0,66*,**	50	98,2±7,09$^{\#}$	1,67±0,33	13,2±1,39$^{\#}$	50	3,5±0,34
Сполука 1-Ф, 12 мг/кг	55,5±4,70$^{\#}$	1,67±0,21$^{\#}$	3,55±0,18	60	90,2±4,61$^{\#}$	1,50±0,22$^{\#}$	13,5±1,61$^{\#}$	60	3,40±0,26
Сполука К, 12 мг/кг	52,3±4,80$^{\#}$	1,57±0,20$^{\#}$	3,19±0,27	70	92,0±4,36$^{\#}$	1,43±0,20$^{\#}$	13,7±1,37$^{\#}$	70	2,9±0,31*,**
Сполука Г, 12 мг/кг	50,8±4,13$^{\#}$	2,4±0,40*,**	3,0±0,31	50	76,8±3,94$^{\#}$	1,6±0,20$^{\#}$	33,2±2,67$^{**,\#}$	50	3,2±0,25*,**
Сполука 3.85, 12 мг/кг	77,3±4,21$^{*,**,\#}$	1,25±0,25$^{\#}$	3,9±0,19	40	100,3±8,97$^{\#}$	1,33±0,33$^{\#}$	11,3±1,45$^{\#}$	30	3,9±0,23
Сполука 38, 12 мг/кг	56,2±6,67$^{\#}$	1,40±0,25$^{\#}$	3,32±0,32	40	97,3±5,78$^{\#}$	1,67±0,33	10,0±1,15$^{*,**,\#}$	30	4,0±0,33
Сполука М, 12 мг/кг	53,2±4,87$^{\#}$	1,40±0,25$^{\#}$	3,32±0,32	50	91,0±6,15$^{\#}$	1,25±0,20$^{\#}$	12,5±1,04$^{\#}$	40	4,1±0,23
Сполука ІК, 12 мг/кг	81,0±2,89$^{*,**,\#}$	1,4±0,16$^{\#}$	3,9±0,38	100	123±6,64$^{*,**,\#}$	1,33±0,33$^{\#}$	12,3±1,85$^{\#}$	30	1,8±0,2*,**
Сполука Гіп-1, 12 мг/кг	61,3±3,70$^{\#}$	1,33±0,21$^{\#}$	3,62±0,11	50	90,7±3,60$^{\#}$	1,33±0,21$^{\#}$	12,7±1,11$^{\#}$	50	3,40±0,22

Примітки:

1. * – відхилення вірогідно щодо групи інтактний контроль, $p<0,05$;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контроль на ін’єкцію, $p<0,05$;
3. # – відхилення вірогідно щодо препарату порівняння, $p<0,05$;
4. n – кількість тварин у кожній групі.

Спостерігалось зменшення латентного періоду виходу тварин в освітлений відсік у 1,6 разу (p<0,001), збільшення кількості виходів і час перебування в ньому в 1,7 разу (p<0,05) і 1,9 разу (p<0,001) відповідно, а також збільшення відсотку щурів, що визирали або виходили. Це супроводжувалося зменшенням кількості болюсів у 1,9 разу (p<0,001). Сполука ІК вірогідно подовжувала латентний період визирання, виходу і зменшувала кількість болюсів. Отже, найактивніше впливали на емоційно-поведінкові реакції експериментальних тварин у тесті «чорно-біла камера» речовини 18, Г та ІК.

Встановлено, що речовина 18 у тесті «поведінка, що карається», варіант Vogel вірогідно зменшувала час підходу щурів у 1,7 разу і збільшувала кількість підходів до поїлки в 1,9 разу (рис. 3). Введення речовин 1-Ф і Гіп-1 зменшувало час латентного періоду підходів до поїлки в 1,7 разу та в 1,5 разу відповідно. Сполуки Г і Гіп-1 підвищували кількість підходів у середньому в 1,6 разу (p<0,002).

Отже, речовини 18, 1-Ф і Гіп-1 виявляють анксіолітичну дію, яка характеризується зменшенням відчуття страху перед больовим подразненням при підході до поїлки і не поступаються за даною активністю діазепаму.

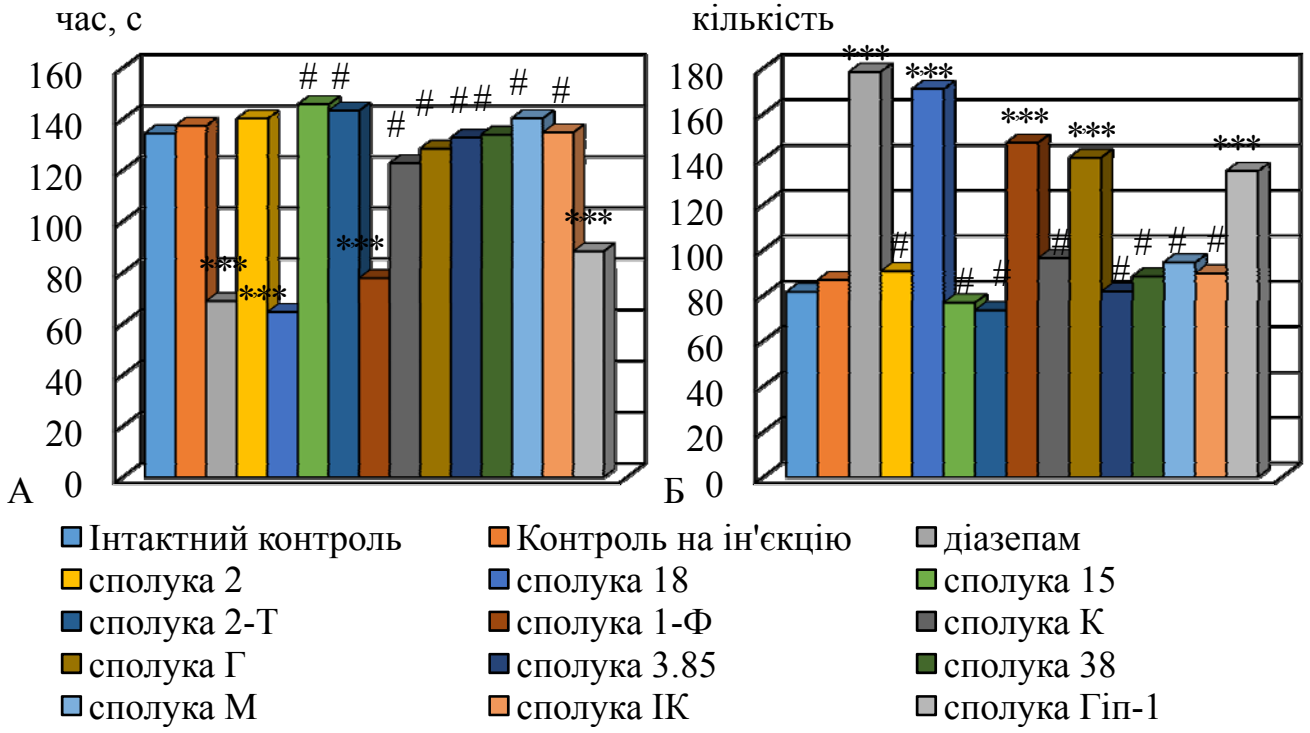


Рис. 3 Вплив похідних 2-оксоіндоліну на латентний період першого караного взяття води з поїлки (А) і кількість підходів до поїлки (Б) у тесті «поведінки, що карається», варіант Vogel

Примітки:

1. * – відхилення вірогідно щодо групи інтактний контроль, p<0,05;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контроль на ін’єкцію, p<0,05;
3. # – відхилення вірогідно щодо препарату порівняння, p<0,05.

За даними лінійного дискримінантного аналізу емоційно-поведінкових реакцій у тестах «піднесений хрестоподібний лабіринт», «чорно-біла камера» і «поведінка, що карається» саме сполука 18 наближала досліджувані показники до ефектів діазепаму.

Вивчення гострої токсичності сполуки-лідера. Результати досліджень гострої токсичності свідчили, що максимальна доза речовини 18, яка не викликала летальності, дорівнювала 1500 мг/кг, найменша смертельна доза (LD_{16}) становила 1920 мг/кг, а LD_{100}=4500 мг/кг. При в/о введенні мишам LD_{50} дорівнювала 3250±159 мг/кг. Довірчі межі величини LD_{50} становили 3250 (2890,7÷3609,3) мг/кг. При вивченні безпечності ентерального внутрішньошлункового шляху введення речовини в дозі 3000 мг/кг включно, не встановлено летальних випадків у мишей у перший день та в наступні 5 діб.

Визначення ефективної дози сполуки лідера. Сполуку 18 вводили в діапазоні доз (1 – 48) мг/кг маси тіла щура. Встановлено, що доза 1 мг/кг не викликала ефекту, мінімальна терапевтична доза ED_{16} – 4,5 мг/кг, максимальна терапевтична доза ED_{100} становила 48 мг/кг. Експериментально визначена ED_{50} на щурах при в/о введенні дорівнювала 11,9±2,85 мг/кг. Встановлено, що сполука 18 є менш токсичною за діазепам у 88 разів, викликає анксіолітичну дію в більшій дозі в 6 разів і за показником терапевтичного індексу перевищує препарат порівняння у 14,8 разу.

Поглиблене дослідження анксіолітичної дії похідного 2-оксоіндоліну. Застосування (30 діб) сполуки 18 у тесті «поведінка, що карається» зменшувало латентний період взяття води з поїлки в 1,6 разу ($p<0,001$) і в 1,3 разу порівняно з введенням діазепаму ($p<0,02$). Під дією речовини вірогідно збільшувалася кількість підходів щурів до поїлки порівняно з контролем і діазепамом (табл. 3). У тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» збільшувалася кількість виходів тварин і час перебування їх у відкритому рукаві у 2,0 рази ($p<0,001$) і в 1,4 разу ($p<0,02$) порівняно з контролем і препаратом порівняння. Введення речовини вірогідно збільшувало кількість зазирань донизу і зменшувало кількість болюсів в 1,3 разу порівняно з контролем на ін’єкцію, тобто не викликало толерантності щодо анксіолітичної дії.

Таблиця 3

Вплив сполуки 18 на поведінку щурів у тесті « поведінка, що карається» при тривалому введенні (M±m, n = 10)

Досліджувана група	Підходи до поїлки	
	латентний період, с.	кількість
Контроль на ін’єкцію	128,1±9,62	91,3±8,25
Діазепам, 2 мг/кг	104,8±6,52	107,8±7,04
Сполука 18, 12 мг/кг	79,9±6,13$^{*,\#}$	156,8±8,84$^{*,\#}$

Примітки:
1. * – відхилення вірогідно щодо групи контроль на ін’єкцію, $p<0,05$;
2. # – відхилення вірогідно щодо препарату порівняння, $p<0,05$;
3. n – кількість тварин у кожній групі.

Застосування сполуки 18 не сприяло розвитку міорелаксації в тесті «вертикальний екран». Вона підвищувала витривалість щурів до статичних фізичних навантажень на відміну від діазепаму. Загальний час тримання на сітці становив 180±0 с, а кількість тварин, що не падали, була 100 %.

При гострому стресі сполука 18 запобігала розвитку стрес-реакції, попереджувала зменшення відносної маси тимусу в 1,5 разу ($p<0,05$),

нормалізувала відносну масу надниркових залоз і не сприяла розвитку виразкоутворення в шлунку. На тлі гострого стресу в тесті «відкрите поле» відмічалося збільшення кількості перетнутих щурами квадратів у 2,1 разу ($p<0,001$) та в 1,5 разу порівняно з діазепамом ($p<0,01$).

Під дією сполуки 18 у щурів спостерігалось збільшення кількості стійок в 1,6 разу ($p<0,05$) і попередження змін кількості актів грумінгу і болюсів порівняно з таким при стресі та застосуванні діазепаму. У тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» ця речовина вірогідно запобігала зменшенню кількості виходів щурів у відкриті рукава лабіринту і зменшувала у них кількість болюсів у 2,2 разу ($p<0,001$) (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив сполуки 18 на показники тривожності в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» у щурів при гострому стресі (M±m, n=10)

Досліджувана група	Кількість виходів у відкритий рукав	Час перебування у відкритому рукаві, с.	Кількість зазирань у відкриті рукава	Кількість зазирань донизу	Кількість болюсів
Інтактний контроль	3,70±0,50	29,3±3,11	4,0±0,44	7,1±0,44	5,43±0,24
Контроль на ін’єкцію	3,9±0,23	26,1±2,28	3,9±0,31	7,4±0,45	5,30±0,20
Гострий стрес (контрольна патологія)	1,6±0,16*	21,1±1,30*	1,7±0,21*	4,2±0,33*	6,8±0,47*
Гострий стрес + діазепам, 2 мг/кг	2,9±0,28**	28,7±2,08**	2,5±0,17**	5,6±0,40**	1,4±0,16**
Гострий стрес + сполука 18, 12 мг/кг	2,7±0,21**	24,7±1,96	1,8±0,25	4,80±0,39	3,1±0,31**,#

Примітки:

1. * – відхилення вірогідно щодо групи контроль на ін’єкцію, $p<0,05$;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контрольної патології, $p<0,05$;
3. # – відхилення вірогідно щодо препарату порівняння, $p<0,05$;
4. n – кількість тварин у кожній групі.

Сполука 18 виявляла антиоксидантні властивості. Під її впливом у крові щурів спостерігалося зниження вмісту ТБК-АП у 2 рази ($p<0,02$) та в 1,7 разу порівняно з таким при введенні діазепаму. Нормалізувалась активність СОД і каталази у крові на відміну від активності ферментів при застосуванні препарату порівняння. Застосування сполуки 18 у тканинах головного мозку зменшувало вміст ТБК-АП у 1,4 разу ($p<0,02$) і вірогідно відновлювало активність каталази та СОД. У тканині печінки вона запобігала накопиченню ТБК-АП і зниженню активності СОД, у міокарді – зменшувала вміст ТБК-АП у 1,4 разу ($p<0,01$). Під дією речовини 18 зменшився вміст сечової кислоти в 1,2 разу в порівнянні зі значеннями при стресі ($p<0,01$) і застосуванні діазепаму ($p<0,05$) та вірогідно запобігала зростанню рівня креатиніну, загального білірубіну та його фракцій у сироватці крові.

У тесті «поведінка, що карається» сполука 18 збільшила кількість підходів щурів до поїлки в 1,7 разу ($p<0,001$). Вона посилювала наркозний ефект тіопентал-натрію.

Отримані результати підтверджують відсутність при застосуванні сполуки 18 розвитку толерантності, міорелаксації та наявність стреспротективних властивостей.

Фармакологічний аналіз взаємодії сполуки-лідера з нейромедіаторними системами головного мозку. Застосування сполуки 18 на тлі введення клонідину через 1 год в тесті «відкрите поле» супроводжувалось у щурів вірогідним зниженням латентного періоду першого переміщення, збільшенням кількості виходів до центру в 2,5 разу, кількості перетнутих квадратів у 2,1 разу, вставань – у 2,4 разу, а також зменшенням кількості болюсних кульок у 3,2 разу ($p<0,001$) (табл. 5).

Таблиця 5

Вплив сполуки 18 на емоційно-поведінкові реакції щурів на тлі клонідину в тесті «відкрите поле» (M±m, n=10)

Досліджувана група	Термін спостереження	Латентний період, с	Кількість				
			вставання	виходи в центр	перетнуті квадрати	болюси	акти грумінгу
Інтактний контроль	1 год	1,12±0,18	13,5±1,48	3,7±0,42	119,3±8,36	2,5±0,24	3,8±0,33
	24 год	1,12±0,18	12,4±1,32	3,3±0,42	104±10,4	2,6±0,27	4,32±0,37
Клонідин, 0,1 мг/кг (контрольна патологія)	1 год	17,3±1,63*	3,34±0,48*	1,35±0,33*	30,2±4,46*	4,26±0,13*	1,25±0,13*
	24 год	15,1±1,64*	4,72±0,41*	1,83±0,22*	38,3±4,13*	4,03±0,37*	1,41±0,13*
Діазепам, 2 мг/кг + клонідин, 0,1 мг/кг	1 год	16,8±1,02	2,9±0,32	2,5±0,29**	25,5±2,18	2,2±0,29	2,1±0,28
	24 год	9,7±1,01**	3,4±0,47	2,40±0,31	35,3±3,16	2,3±0,42**	2,0±0,25
Сполука 18, 12 мг/кг + клонідин, 0,1 мг/кг	1 год	12,9±1,36**,#	8,25±0,89**,#	3,45±0,22**,#	65,2±2,49**,#	1,33±0,15**	1,34±0,15
	24 год	1,73±0,34**,#	9,70±1,57**,#	3,10±0,43**	73,3±9,07**,#	2,25±0,36**	1,80±0,39

Примітки:
1. * – відхилення достовірно щодо групи контроль на ін’єкцію, $p<0,05$;
2. ** – відхилення достовірно щодо групи контрольної патології, $p<0,05$;
3. # – відхилення достовірно щодо препарату порівняння, $p<0,05$;
4. n – кількість тварин у групі.

На тлі дії клонідину подібні зміни сполука викликала й через 24 год. Ці ефекти свідчать, що у нейротропній дії сполуки 18 може відігравати певну роль антагоністичний вплив на α_2–адренорецептори і/або імідазолінові рецептори.

Введення речовини 18 не впливало на каталептогенні ефекти галоперидолу й стереотипію та гіпотермію, що викликав апоморфін. Це може свідчити про відсутність прямого залучення дофамінових рецепторів у механізми нейротропного впливу речовини. На тлі L-ДОФА (100 мг/кг) сполука-лідер через 30 хв потенціювала його вегетотропні ефекти, про що свідчило вірогідне збільшення виразності екзофтальму і гіперсалівації (табл. 6). При цьому пілоерекція виникала у 40% щурів у групі. Через 60 хв сполука 18 продовжувала потенціювати ефекти L-ДОФА. На 90 хв досліду зберігалась аналогічна тенденція до посилення ефектів L-ДОФА. Ці ефекти, вочевидь, обумовлені накопиченням ДА в ЦНС за рахунок можливого інгібування МАО, що призвело до збудження вегетативної нервової системи.

Таблиця 6

Вплив сполуки 18 на ефекти L-ДОФА (100 мг/кг) Me (25 %;75 %)

Досліджувана група	Екзофтальм, бали			Гіперсалівація, бали		
	30 хв	60 хв	90 хв	30 хв	60 хв	90 хв
L-ДОФА, 100 мг/кг (контрольна патологія I)	0(0; 1,0)	0(0; 1,0)	0(0; 1,0)	0(0; 1,0)	0(0; 1,0)	0(0; 1,0)
L-ДОФА, 500 мг/кг (контрольна патологія II)	1,0(1,0; 2,0)*	2,0(1,0; 2,0)*	2,0(1,0; 2,0)*	2,0(1,0; 3,0)*	3,0(1,0; 3,0)*	3,0(2,0; 3,0)*
Діазепам, 2 мг/кг + L-ДОФА, 100 мг/кг	0(0; 1,0)**	0(0; 1,0)**	0(0; 1,0)**	0(0; 1,0)**	0(0; 1,0)**	0(0; 1,0)**
Сполука 18, 12 мг/кг + L-ДОФА 100 мг/кг	1,0(0; 2,0)*	1,0(0; 2,0)*,**,#	1,0(0; 2,0)*,**,#	1,0(1,0; 2,0)*	1,0(1,0; 2,0)*,**	2,0(1,0; 3,0)*,**

Примітка:

1. * – відхилення вірогідно щодо групи контрольної патології I, p<0,05;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контрольної патології II, p<0,05;
3. # – відхилення вірогідно щодо препарату порівняння, p<0,05;
4. n – кількість тварин у групі.

Введення сполуки 18 суттєво не впливало на ефекти 5-окситриптофану (50 мг/кг). Це свідчить, що вона не чинить прямого міметичного впливу на центральну серотонінергічну передачу. Запобіжне її введення на тлі 5-окситриптофану (300 мг/кг) зменшувало кількість хитань головою через 20 хв у 2,1 раза (p<0,001), через 30 хв – у 3,5 разу в порівнянні з введенням 5-окситриптофану (300 мг/кг) (p<0,001) і в 1,4 раза порівняно з показниками при застосуванні діазепаму (p<0,05). У наступні два терміни також відмічалося зменшення кількості хитань головою. Результати вивчення взаємодії речовини з попередником 5-НТ вказують на наявність у неї антисеротонінергічної дії, яка може бути обумовлена блокадою 5-НТ рецепторів і/або зворотного захоплення 5-НТ. У попередніх дослідженнях показана ефективність похідних 2-оксоіндоліну на моделі фармакогенної депресії, що викликана введенням резерпіну та пригніченням серотонінергічної системи за рахунок блокади 5-$НТ_{2А}$-рецепторів у мозкових ядрах ЦНС (І. І. Заморський, О. Г. Резніков, 2004; О. В. Шатілов, 2014).

Сполука 18 вірогідно зменшувала симптоми тремору в щурів на тлі введення ареколіну та нікотину, що вказує на антагонізм з М- і Н-холінореактивними системами та може свідчити про холіноблокувальні властивості сполуки 18.

При дослідженні взаємодії з ГАМК-ергічною системою встановлено, що на тлі дії пентилентетразолу сполука 18 збільшувала тривалість латентного періоду початку судом у 1,9 разу (p<0,001), вірогідно зменшувала кількість судомних актів, а також тривалість судомного періоду в 2,3 разу (p<0,001) і при цьому не спостерігалося летальних випадків. Застосування речовини 18 зменшувало інтенсивність судом у 1,7 разу (p<0,001) і достовірно подовжувала латентний період початку пентилентетразолових судом у порівнянні з таким при уведенні діазепаму.

На тлі пікротоксину сполука 18 пролонгувала латентний період початку судом у 2 рази (p<0,001) і зменшувала кількість судом у 1,9 разу (p<0,001). При цьому у щурів вірогідно зменшувалась тривалість конвульсивного періоду і не реєструвались летальні випадки. Уведення речовини вірогідно зменшувало

інтенсивність судом. Це може свідчити про наявність у неї протисудомних властивостей і позитивну ГАМК-ергічну дію.

Корекція сполукою-лідером порушень поведінки та її нейрохімічні механізми при експериментальному неврозі. Профілактично-лікувальне застосування сполуки 18 на тлі моделі неврозу в щурів (30 діб) у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» збільшувало в них кількість виходів у 2,7 разу ($p<0,001$), що сприяло збільшенню часу перебування у відкритій частині лабіринту в 1,9 разу ($p<0,001$) порівняно з контрольною патологією (табл. 7).

Таблиця 7

Вплив сполуки 18 на показники тривожності щурів у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» при експериментальному неврозі (M±m, n=8)

Досліджувана група	Кількість виходів у відкритий рукав	Час перебування у відкритому рукаві, с.	Кількість зазирань у відкриті рукава	Кількість зазирань до низу	Кількість болюсів
Інтактні + фізіологічний розчин (контрольна група)	3,63±0,38	26,9±2,0	4,13±0,4	6,75±0,45	5,38±0,32
Експериментальний невроз (контрольна патологія)	1,75±0,25*	9,90±0,77*	2,75±0,31*	3,63±0,57*	7,75±0,88*
Експериментальний невроз + діазепам, 2 мг/кг	3,25±0,37**	18,2±1,89**	3,38±0,42	5,75±0,62**	4,25±0,44**
Експериментальний невроз + сполука 18, 12 мг/кг	4,63±0,38**	19,1±1,21*,**	2,75±0,45*	6,0±0,57**	3,88±0,44**

Примітки:
1. * – відхилення вірогідно щодо контрольної групи, $p<0,05$;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контрольної патології, $p<0,05$;
3. n – кількість тварин у групі.

Ця речовина позитивно впливала й на інші показники. Про це свідчила нормалізація кількості зазирань донизу та зменшення кількості болюсів у 2,0 рази ($p<0,001$) порівняно з експериментальним неврозом.

При неврозі в тесті «чорно-біла камера» речовина 18 у щурів зменшувала латентний період першого визирань в освітлений відсік камери в 1,3 разу ($p<0,01$), вірогідно збільшувала кількість і час зазирань в освітлений відсік камери в 1,6 разу і в 1,5 разу порівняно з контрольною патологією. Поряд з цим, сполука-лідер вірогідно зменшувала латентний період першого виходу та кількість виходів у 1,3 разу і 1,6 разу відповідно, порівняно з контрольною патологією. Введення сполуки 18 збільшувало час перебування в освітленому відсіку камери в 1,8 разу ($p<0,05$) і зменшувало кількість болюсів у 1,3 разу ($p<0,02$) порівняно з показниками щурів з неврозом без корекції.

Застосування сполуки 18 на моделі неврозу ефективно протидіяло стану ангедонії в щурів. Зокрема, збільшувалась кількість підходів до поїлки з сахарозою у 1,4 разу ($p<0,02$), а також кількість випитої сахарози у 1,3 разу ($p<0,02$).

Введення похідного 2-оксоіндоліну (30 діб) інтактним щурам не викликало змін рівня моноамінів та їх співвідношення у крові, що свідчить про його безпечність стосовно нейрохімічних зсувів у інтактних щурів. На тлі неврозу вірогідно зменшувався рівень адреналіну, але підвищувався рівень НА, ДА в плазмі крові та рівень 5-НТ у сироватці крові у 2,0 рази ($p<0,002$) (табл. 8). Рівень НА у плазмі крові підвищувався в 1,3 разу порівняно з таким при застосуванні діазепаму ($p<0,01$).

Таблиця 8

Вплив сполуки 18 на рівень моноамінів у крові щурів при експериментальному неврозі (M±m, n=8)

Досліджувана група	Адреналін, плазма крові, пг/мл	Норадреналін, плазма крові, пг/мл	Дофамін, плазма крові, пг/мл	Серотонін, сироватка крові, нг/мл
Інтактні + фізіологічний розчин (контрольна група)	47,9±3,64	92,4±6,36	36,2±3,40	862±88,3
Експериментальний невроз (контрольна патологія)	75,4±4,85*	66,1±4,63*	21,8±1,52*	519±37,5*
Експериментальний невроз + діазепам, 2 мг/кг	63,3±3,81*	69,3±4,52*	34,2±2,27**	1119±88,8**
Експериментальний невроз + сполука 18, 12 мг/кг	54,5±3,58**	89,1±4,41**,#	30,5±2,87**	1047±123**

Примітки:
1. * – відхилення достовірно щодо контрольної групи, $p<0,05$;
2. ** – відхилення достовірно щодо групи контрольної патології, $p<0,05$;
3. # – відхилення достовірно щодо препарату порівняння, $p<0,05$;
4. n – кількість тварин у кожній групі.

Введення сполуки-лідера вірогідно зменшувало кількість ГВК у сечі, вміст ВМК у 1,3 разу ($p<0,02$) і кількість 5-ОІОК у 1,5 разу ($p<0,01$) (табл. 9).

Таблиця 9

Вплив сполуки 18 на вміст метаболітів обміну моноамінів у сечі щурів при експериментальному неврозі (M±m, n=8)

Досліджувана група	Гомованілінова кислота, пг/мл	Ванілілміндальна кислота, мкг/мл	5-оксііндолоцето-ва кислота, мкг/мл
Інтактні + фізіологічний розчин (контрольна група)	1,29±0,088	3,92±0,39	10,4±0,81
Експериментальний невроз (контрольна патологія)	2,03±0,120*	7,63±0,46*	19,3±1,39*
Експериментальний невроз + діазепам, 2 мг/кг	1,49+0,122**	5,77+0,47**	13,5+0,811**
Експериментальний невроз + сполука 18, 12 мг/кг	1,43±0,068**	5,87±0,39**	12,9±1,12**

Примітки:
1. * – відхилення вірогідно щодо контрольної групи, $p<0,05$;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контрольної патології, $p<0,05$;
3. n – кількість тварин у кожній групі.

Речовина, що досліджується, знижувала співвідношення ГВК/ДА, що, вочевидь, свідчило про нормалізацію активності МАО і підвищення рівня ДА за рахунок гальмування його руйнування.

Співвідношення ВМК/(НА+адреналін) знижувалося, що на тлі попереднього показника вказувало, що речовина 18 може модифікувати активність катехол-О-метилтрансферази. Вона ефективно коригувала співвідношення 5-ОІОК/5-НТ. Такий результат віддзеркалює нормалізацію активності ферментів, які беруть участь в обміні та підтриманні сталого рівня 5-НТ. На тлі сполуки 18 співвідношення НА/ДА суттєво не змінювалось, однак відновлювався подальший метаболізм моноамінів. На це вказувало зменшення співвідношення адреналін/НА на 102 %.

Отже, сполука-лідер на моделі неврозу ефективно підтримувала рівень моноамінів у крові та зменшувала вміст продуктів їх обміну в сечі. Таке може відбуватися за рахунок інгібування активності МАО, оскільки інші похідні індолу (синтетичні сполуки та алкалоїди) здатні інгібувати МАО (D. Kerzare, P. Khedekar, 2016; R. K. Tripathi et al., 2016).

Введення інтактним щурам сполуки 18 не впливало на вміст нейроактивних амінокислот і активність ГДК та ГАМК-трансамінази в тканинах мозку, що свідчить про відсутність суттєвих змін ГАМК-ергічної системи та безпечність її тривалого застосування.

За умов патології дана сполука знижувала вміст глутамінової кислоти в тканинах головного мозку в 1,5 разу ($p<0,002$), підвищувала вміст ГАМК у 2,1 разу ($p<0,001$), підвищувала активність ГДК в 1,3 разу ($p<0,001$) і нормалізувала активність ГАМК-трансамінази (табл. 10). Спостерігалося коригування розладів обміну ГАМК, що свідчить про участь цієї нейромедіаторної системи в механізмах її протиневротичної дії.

Таблиця 10

Вплив сполуки 18 на показники ГАМК-ергічної системи в щурів при експериментальному неврозі (M±m, n=8)

Досліджувана група	Сироватка	Головний мозок		
	ГАМК, нмоль/л	глутамінова кислота, мкмоль/г	ГДК, мкмоль НАДФ/хв·г. білка	ГАМК-Т, мкмоль/хв·г. білка
Інтактні + фізіологічний розчин (контрольна група)	1,44±0,080	8,41±0,72	1,86±0,11	11,9±1,16
Експериментальний невроз (контрольна патологія)	0,575±0,075*	14,1±1,06*	1,29±0,053*	21,3±1,98*
Експериментальний невроз + діазепам, 2 мг/кг	1,28±0,096**	9,01±0,57**	1,76±0,074**	12,3±1,06**
Експериментальний невроз + сполука 18, 12 мг/кг	1,18±0,086**	9,53±0,46**	1,69±0,083**	14,1±0,90**

Примітки:

1. * – відхилення вірогідно щодо контрольної групи, $p<0,05$;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контрольної патології, $p<0,05$;
3. n – кількість тварин у кожній групі.

Регулювальний вплив сполуки 18 на систему ГАМК при експериментальному неврозі, певною мірою, може бути обумовлений антиоксидантними та антигіпоксичними властивостями, що характерні для похідних 2-оксоіндоліну (І. І. Заморський і співавт., 2016). Слід вказати, що крім вищезазначеного впливу на систему основного гальмівного медіатора, сполука 18 виявляла ноотропні властивості на рівні пірацетаму, який є за хімічною будовою близьким до ГАМК і містить 2-оксопіролоновий цикл (О. В. Шатілов і співавт., 2012).

Фармакологічний профіль антидепресивної активності в похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Через 1 год після введення в тесті Порсолта сполука 18 збільшувала час настання першого «зависання» у 2,6 разу ($p<0,001$) і зменшувала загальний час іммобільності в 7,1 разу ($p<0,001$) порівняно з контролем на ін'єкцію (рис. 7). Сполуки 15 і 1-Ф вірогідно покращували показники депресивності щурів. Застосування сполуки Г зменшувало час іммобільності в 1,5 разу ($p<0,02$). Сполука 3.85 вірогідно пролонгувала латентний період та зменшувала загальний час іммобільності. За даних умов експерименту речовини 18-4 і 18-5 вірогідно збільшували час настання першого «зависання», зменшували загальний час іммобільності у 2,5 разу і в 1,7 разу відповідно, порівняно зі значеннями в контрольній групі. При застосуванні сполуки ГАК у жодного з піддослідних щурів не спостерігалося періоду іммобільності, тобто тварини вільно плавали протягом шести хвилин. Інші сполуки вірогідно не змінювали показники, що досліджувались. Отже, сполуки 18, ГАК і 1-Ф виявились ефективнішими за іміпрамін. Встановлено, що через 24 год сполука 18 у тесті «вимушеного плавання» збільшувала час настання першого «зависання» в 1,8 разу ($p<0,001$) і зменшувала загальний час іммобільності у 2,3 разу ($p<0,001$).

Сполука 1-Ф збільшувала латентний період в 1,5 разу ($p<0,002$), а загальний час іммобільності зменшився у 2,4 разу ($p<0,001$). Сполука Гіп-1 пролонгувала першу іммобільність у 2,4 разу ($p<0,001$) і зменшувала загальний час нерухомості в 7,2 разу ($p<0,001$). Речовини 18-4 і 18-5 вірогідно подовжували латентний період першого «зависання» і зменшували загальну іммобільність. Сполука ГАК затримувала час настання першої іммобільності у 2,1 разу ($p<0,001$), а загальний час іммобільності зменшувала в 1,6 разу ($p<0,02$). Однак сполуки 18-4, 18-5 і ГАК вірогідно подовжували загальний час іммобільності порівняно з таким при застосуванні іміпраміну. Отже, найактивнішою у тесті Порсолта виявилась сполука Гіп-1.

Також антидепресивну активність похідних 2-оксоіндоліну оцінювали у тесті «підвішування за хвіст». Дослідження речовин 2, 18, 15, 1-В, 1-Ф, Г, 38, 17/92, М, ІК, 18-4, 18-5 та ІЕ через 1 год після введення показало, що вони вірогідно не впливали на латентний період нерухомості. Введення сполуки 3.85 зменшувало тривалість періоду нерухомості в 1,3 раза ($p<0,05$). Речовина ГАК зменшила ключовий показник у 1,4 раза ($p<0,01$) порівняно з контролем на ін'єкцію. Аналогічно діяла сполука 1425. Застосування сполук 3.85, ГАК і 1425 скорочувало латентний період підняття мордочки тварини до кінчика хвоста, тобто вони виявляли виразну антидепресивну дію, що була зіставлювана з дією іміпраміну. Через 24 год похідні 2-оксоіндоліну Гіп-1 та ГАК зменшували тривалість періоду іммобільності в середньому в 1,4 раза ($p<0,05$) і виявляли активність на рівні препарату порівняння. Таким чином, у тесті «підвішування за хвіст» через 1 та 24 год після введення найактивнішими серед інших виявилися сполуки Гіп-1 і ГАК.

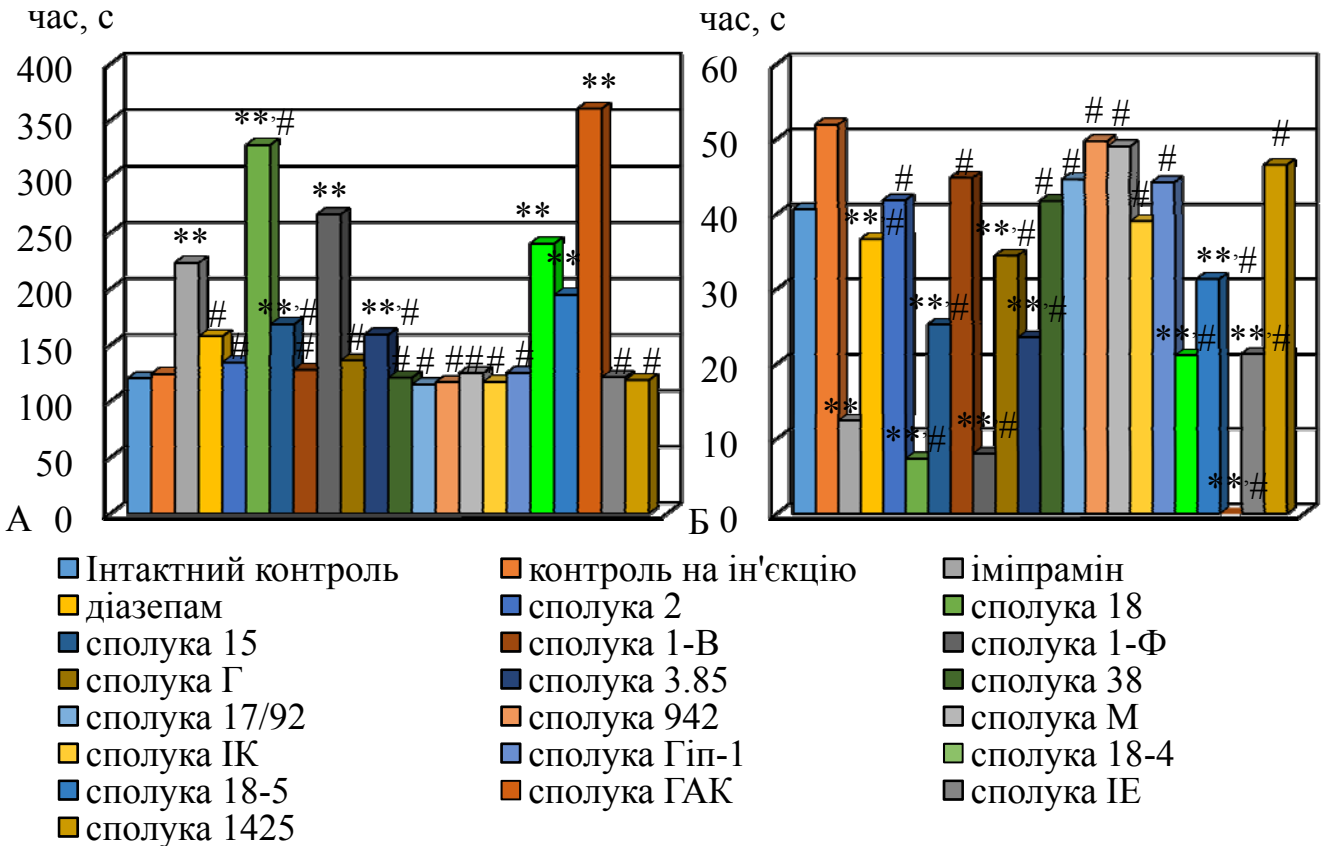


Рис. 7. Вплив похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на тривалість латентного періоду першого «зависання» (А) і загальний час іммобільності (Б) щурів у тесті Порсолта через 1 год після введення (с)

Примітки:

1. * – відхилення вірогідне щодо групи інтактний контроль, $p<0,05$;
2. ** – відхилення вірогідне щодо групи контроль на ін’єкцію, $p<0,05$;
3. # – відхилення вірогідне щодо препарату порівняння, $p<0,05$.

Отже, у похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти встановлені антидепресивні властивості, що доповнюють і поглиблюють попередні дослідження (О. В. Шатілов, 2014; А.Г. Сидоренко, 2016).

Вивчення похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на наявність актопротекторних властивостей. За умов нормотермії сполука 18 збільшувала тривалість плавання тварин у 1,3 разу ($p<0,05$) (рис. 8). Введення речовини ГАК пролонгувало процес плавання в 1,5 разу ($p<0,001$), а сполуки 15, Гіп-1 і 1407 у 1,2 разу, 1,2 разу і 1,3 разу відповідно порівняно з показниками групи контроль на ін’єкцію. Препарат порівняння субстанція етилтіобензімідазола подовжувала тривалість плавання в 1,5 разу відносно значень параметру у групі контроль на ін’єкцію. Інші похідні 2-оксоіндоліну не виявляли достатньої ефективності у даному тесті. Отже, за величиною актопротекторної дії найефективнішими виявились речовини 18, 15, ГАК, Гіп-1 та 1407, які діяли на рівні етилтіобензімідазол.

Запобіжне введення сполуки 18 щурам за умов гіпотермії подовжувало час плавання в 1,5 разу ($p<0,01$), а речовина 15 – в 1,8 разу ($p<0,01$) і вірогідно за субстанцію етилтіобензімідазолу. Введення сполук 3.85, Гіп-1, Е-38 і 1407 вірогідно пролонгувало тривалість плавання порівняно з контролем на ін’єкцію. Інші

речовини, що досліджувалися, не виявляли ефективності. Отже, на тлі гіпотермії виразну активність виявили сполуки 15, 18, К, 3.85, Гіп-1, Е-38 та 1407. При цьому речовина 15 за ефективністю переважала етилтіобензімідазол.

При плаванні щурів у воді температурою +40 ^{0}С встановлено, що введення речовини 18 збільшувало в них час плавання в 1,4 разу ($p<0,001$). Аналогічна дія була притаманна сполукам 15, К, 3.85, 2-Т, 1425 та 1407 та Гіп-1. Застосування речовини ГАК збільшувало тривалість плавання в 1,7 раза ($p<0,001$) порівняно з контролем на ін'єкцію.

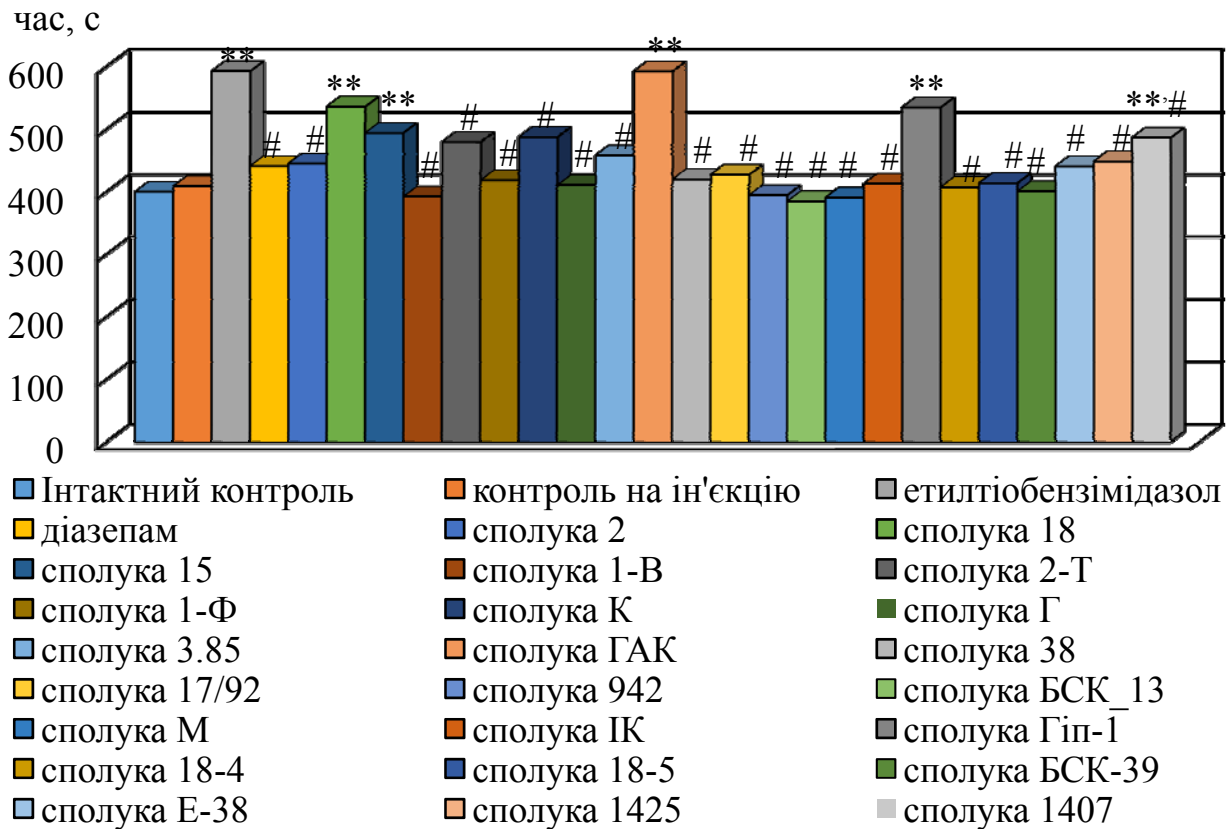


Рис. 8. Вплив похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на тривалість плавання до виснаження щурів при t=24-26 ^{0}С з додатковим навантаженням 10% від маси (с)

Примітки:

1. * – відхилення вірогідно щодо групи інтактний контроль, $p<0,05$;
2. ** – відхилення вірогідно щодо групи контроль на ін'єкцію, $p<0,05$;
3. # – відхилення вірогідно щодо препарату порівняння, $p<0,05$.

Отримані результати свідчать, що похідні 2-оксоіндоліну виявляють виразну актопротекторну дію. В окремих тестах речовини 15, 2-Т, ГАК, Гіп-1 і 1407 були активнішими за етилтіобензімідазол. Виявлена дія в похідних 2-оксоіндоліну можливо пов'язана зі зменшенням чутливості тканин до нестачі кисню, оптимізацією процесів клітинного дихання і гальмуванням пероксидації (Ю. С. Букатару, 2018).

Дослідження органопротекторної дії сполуки-лідера. Моделювання адреналінового міокардиту не викликало летальності щурів у групах. Ця патологія характеризувалася специфічними змінами показників ЕКГ, біохімічних маркерів у плазмі крові та серцевому м'язі щурів.

Під дією сполуки 18 значно покращувалися показники ЕКГ, нормалізувались інтервали PQ та QT, що свідчить про запобігання негативного впливу адреналіну на передсердну та шлуночкову провідність, а також його аритмогенну дію. Відмічалося збільшення вольтажу зубців P і T, зменшення елевації сегменту ST, кількості тварин з такими змінами (у 1,6 разу та на 30 % відповідно) і покращення скоротливої функції серця. Сполука-лідер нормалізувала біохімічні зміни, що верифіковано за зменшенням ступеня ішемічно-деструктивних процесів у міокарді (зниження активності КК-МВ, АсАТ та АлАТ) (табл. 11). Також на тлі сполуки 18 спостерігали зменшення інтенсивності процесів ПОЛ за вірогідним зниженням ТБК-АП у міокарді тварин на 19 % і стимуляцію пригніченої антиоксидантної системи міокарда, за рахунок достовірного збільшення активності СОД та каталази щодо показників групи контрольна патологія на 17 % та 34 % відповідно.

Таблиця 11

Вплив сполуки 18 на біохімічні показники стану серцевого м'язу щурів за умов адреналінового міокардиту (M±m, n=8-10)

Показники, групи тварин	Інтактний контроль	Адреналіновий міокардит		
		контрольна патологія	етилметилгідрокси-піридину сукцинат, 100 мг/кг	сполука 18, 12 мг/кг
Плазма крові				
КК-МВ, МО/л	672,6±32,5	778,3±18,9*	754,6±22,6*	708,5±18,9**
АсАТ, мкМ / (год × мл)	0,90±0,10	3,36±0,08*	3,53± 0,08*	2,31±0,12*,**,#
АлАТ, мкМ / (год × мл)	0,67±0,21	3,06±0,19*	3,14±0,14*	1,46±0,19*,**,#
Коефіцієнт де Рітіса	1,67±0,39	1,14±0,08	1,15±0,06	1,79±0,24**,#
ТБК-АП, мкМ/л	6,33±0,07	7,14±0,18*	6,79± 0,08*	6,70±0,12*
Міокард				
СОД, од./(хв ×г)	24,2±1,72	15,8±0,79*	16,2±1,62*	18,5±0,92*,**
Каталаза, мкМ / (хв × г)	53,0±3,94	31,7±2,62*	33,7±3,27*	42,3±2,23*,**,#
ТБК-АП, мкМ/г	132,8±9,90	184,2±8,72*	178,7±8,29*	155,3±6,09**,#

Примітки:

1. * – відхилення достовірно щодо групи інтактний контроль, $p<0,05$;
2. ** – відхилення достовірно щодо групи контрольна патологія, $p<0,05$;
3. # – відхилення достовірно щодо препарату порівняння, $p<0,05$;
4. n – кількість тварин у групі.

Кардіопротекторну дію сполуки 18 та її, переваги над етилметилгідроксипіридину сукцинатом також підтверджувалися гістологічними дослідженнями (рис. 4). Сполуки 18 запобігала розвитку ушкоджень міокарда. У щурів серцево-м’язові волокна звичайної товщини, без ознак набряку, міофібрили незмінені та відсутні ознаки ішемії міокарда.

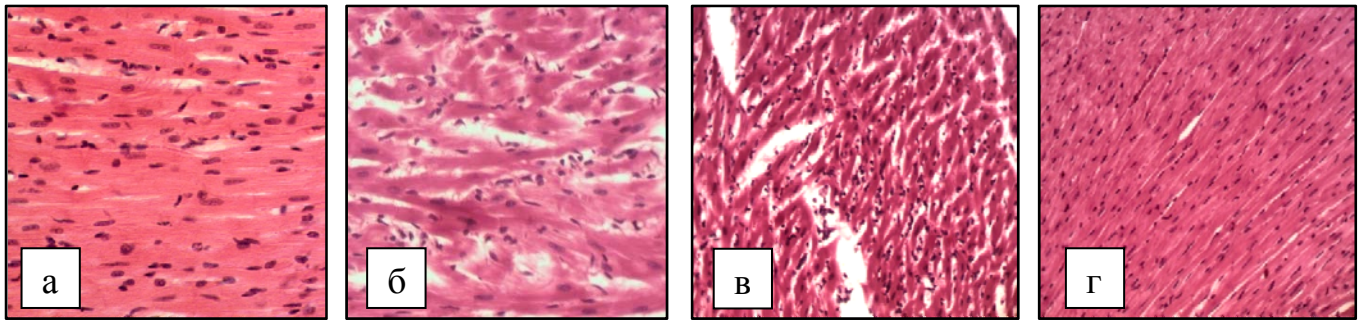


Рис. 4 Вплив сполуки 18 (12 мг/кг) і етилметилгідроксипіридину сукцинату (100 мг/кг) на міокард щурів за умов адреналінового міокардиту: а – міокард інтактного щура. Нормальний стан серцево-м'язових волокон (× 400); б – міокард щура після введення адреналіну. Набряк, потовщення фрагментів м′язових волокон, втрата поперечної посмугованості у цих фрагментах (× 250); в – міокард лівого шлуночка щура, який отримував етилметилгідроксипіридину сукцинат на тлі адреналіну. Ділянки міокарда з набряком волокон, збільшенням кількості макрофагально-лімфоцитарних клітин у стромі (× 200); г – міокард лівого шлуночка щура, який отримував сполуку 18 на тлі адреналіну: а – повне відновлення стану серцево-м'язових волокон (× 200). Гематоксилін-еозин

Кардіопротекторну дію сполуки 18 можна пояснити виразною АО та антигіпоксичною дією цієї речовини (С. Ю. Шатілов, 2014).

Гепатопротекторні властивості сполуки 18 оцінювали на тлі гострого тетрахлорметанового гепатиту. На 4 добу перебіг патології супроводжувався загибеллю 50 % експериментальних щурів, збільшення КМ печінки в 1,4 ($p<0,01$) порівняно з таким у групі інтактного контролю (табл. 12).

Таблиця 12

Дослідження гепатопротекторних властивостей сполуки 18 при гострому тетрахлорметановому гепатиті (M±m, n=5-10)

Досліджувана група	Вижи-ваність, %	КМ печінки, %	Час настання тіопенталового наркозу, хв	АлАТ, ммоль/ч·л	АсАТ, ммоль/ч·л
Інтактний контроль	100	2,98±0,05	3,58±0,14	0,31±0,02	0,79±0,04
Тетрахлорметановий гепатит (контрольна патологія)	50	4,08± 0,20*	1,79± 0,37*	1,64± 0,06*	2,91± 0,18*
Тетрахлорметановий гепатит + етилметилгідроксипіридину сукцинат, 100 мг/кг	80	3,67± 0,10*	2,82± 0,17*,**	1,34± 0,04*,**	2,09± 0,19*,**
Тетрахлорметановий гепатит + сполука 18, 12 мг/кг	100	3,43± 0,13*,**	1,31± 0,14*,**,#	1,06± 0,05*,**,#	1,70± 0,08*,**

Примітки:

1. * – $p<0,05$ у порівнянні з інтактним контролем;
2. ** – $p<0,05$ у порівнянні з тетрахлорметановим гепатитом;
3. # – $p<0,05$ у порівнянні з етилметилгідроксипіридину сукцинатом;
4. n – кількість тварин у групі.

Сполука 18 виразніше за етилметилгідроксипіридину сукцинат коригувала гострий терахлорметановий гепатит. Це підтверджувалося зменшенням значення КМ печінки в 1,2 разу ($p<0,02$), активності АлАТ і АсАТ у сироватці крові в 1,6 разу ($p<0,001$) і в 1,7 разу ($p<0,001$) і зменшенням часу настання тіопенталового наркозу, що можна пояснити стимуляцією мікросомального окиснення речовиною. Поряд з цим, сполука-лідер зменшувала вміст загального білірубіну в сироватці крові за рахунок зменшення вмісту прямого в 1,3 разу ($p<0,05$) і непрямого білірубіну в 1,4 разу ($p<0,01$), що свідчить про корекцію процесів кон'югації та екскреції в гепатоцитах щурів. Сполука 18 ефективніше за препарат порівняння запобігала зростанню активності АлАТ та вмісту прямого білірубіну в сироватці крові. Позитивний вплив сполуки 18 на фоні гострого терахлорметаногого гепатиту підтверджувався гістологічно у вигляді збереження печінкових часточок, зменшення явищ жирової і гідропічної дистрофії та лейкоцитарної інфільтрації (рис. 5).

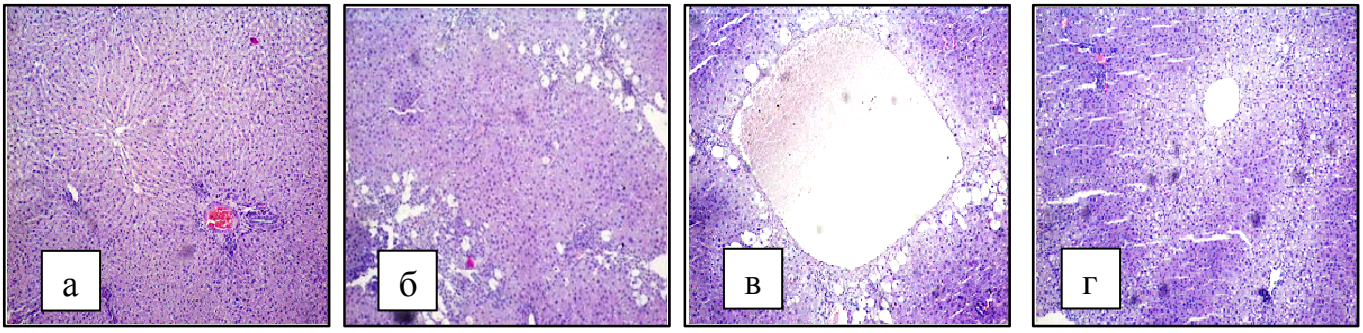


Рис. 5. Вплив сполуки 18 (12 мг/кг) і етилметилгідроксипіридину сукцинату (100 мг/кг) на печінку щурів при терахлорметановому гепатиті: а – печінка інтактного щура. Нормальний стан гістоструктури органу (х 10); б – печінка щура після введення тетрахлорметану. Гепатоцити у стані дрібно- і великокраплинної жирової дистрофії, окремі клітини органу в стані гідропічної дистрофії (х 10); в – печінка щура, який отримував на тлі етилметилгідроксипіридину сукцинату тетрахлорметан, гепатоцити у стані дрібно- і великокраплинної жирової дистрофії (х 10); г – печінка щура, який отримував на тлі сполуки 18 тетрахлорметан (х 10). Гематоксилін-еозин

За умов етиленгліколевої інтоксикації сполука 18 і етилметилгідроксипіридину сукцинат не чинили захисної дії щодо летальності мишей. Через добу після моделювання гліцерол-індукованої ГУН не реєстрували загибелі щурів у експериментальних групах. На тлі цієї патології сполука 18 спричиняла виразніше зменшення сечовиділення, ніж у групі контрольної патології та групі з введенням етилметилгідроксипіридину сукцинату.

На відміну від діазепаму, сполука 18 чинила незначну антипротеїнуричну дію. Сполука 18 і препарат порівняння не сприяли зменшенню інтенсивності процесів ПОЛ, однак вони стимулювали пригнічену АО систему нирок, що встановлено за збільшенням активності каталази щодо групи контрольної патології на 50 % ($p<0,05$) та 70 % ($p<0,005$) відповідно.

Отримані гістологічні дані корелюють із результатами вивчення функціонального стану нирок та свідчать про відсутність позитивного впливу досліджуваної сполуки 18 та препарату порівняння на перебіг гліцерол-індукованого ГУН (рис. 6).

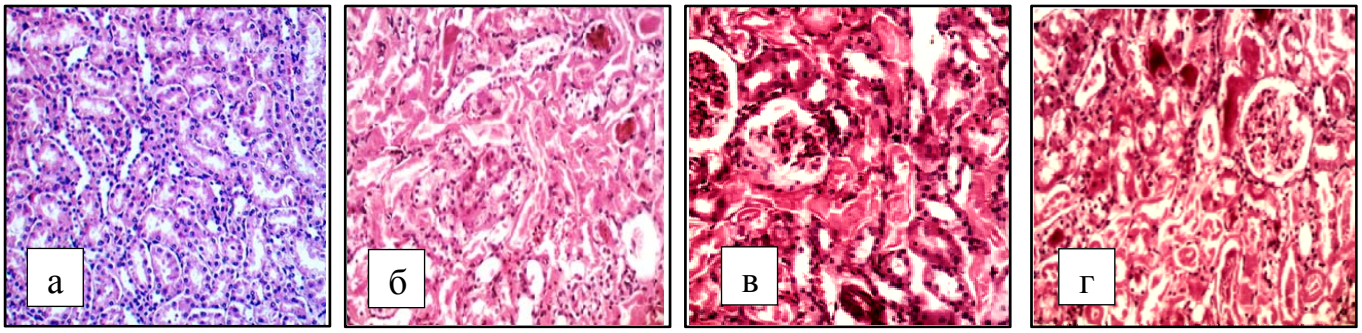


Рис. 6. Вплив сполуки 18 (12 мг/кг) і етилметилгідроксипіридину сукцинату (100 мг/кг) на нирки щурів за умов гліцеролового ГУН: а – нирка інтактного щура, звивисті канальці кортико-медулярної зони; б – нирка щура після введення гліцеролу. Некроз звивистих канальців з деструкцією базальних мембран, гомогенні еозинофільні маси закупорюють просвіт канальців кіркового шару; в – нирка щура, який профілактично до гліцеролу отримував етилметилгідроксипіридину сукцинат. Патологічні зміни повністю співпадають з такими в контрольній патології; г – нирка щура, який профілактично до гліцерилу отримував сполуку 18. Патологічні зміни аналогічні контрольній патології. Некроз та оклюзія звивистих канальців з гомогенними білковими масами, розпад капілярних сегментів клубочку нирка. Гематоксилін-еозин (х 200)

Отже, сполука 18 чинила виразну анксіолітичну, стреспротекторну, протисудомну та актопротекторну дії, що можуть бути обумовлені впливом на рецепторні, нейромедіаторні та метаболічні процеси (табл. 14, рис. 9). Фармакологічний аналіз показав, що нейротропна дія в неї пов’язана з антагонізмом до пресинаптичних α_2-адренорецепторів у ЦНС, стимулюванням адренергічної та дофамінергічної нейротрансмісії. Слід зазначити, що надлишок ДА може активувати D_1-авторецептори і, тим самим, обмежувати викид медіатора в синапс. Крім того, виявлені фармакологічні властивості сполуки 18 можуть бути обумовлені блокуванням пресинаптичних 5-HT_{2A}-рецепторів, антисеротоніновою, ГАМК-міметичною активністю та збільшенням кількості ГАМК. Захисна дія сполуки 18 при неврозі може бути обумовлена регуляцією моноамінергічних процесів, зниженням вмісту глутамінової кислоти, підвищенням ГАМК, ГДК та пригніченням активності ГАМК-Т у головному мозку (рис. 9). Про це свідчить відновлення кореляційних зв’язків, що відсутні при неврозі, між поведінковими паттернами і показниками моноамінергічної та ГАМК-ергічної системами. Під впливом речовини 18 у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» кількість виходів у відкритий рукав утворювала сильні кореляційні зв’язки з вмістом ДА (r=+0,80), 5-НТ (r=+0,80), ГВК (r=-0,87), ВМК (r=-0,82), глютамінової кислоти (r=-0,89) і ГАМК (r=+0,75), у тесті «чорно-біла камера» кількість виходів в освітлений відсік утворювала 13 сильних кореляційних зв’язків, зокрема з вмістом ДА (r=+0,93), 5-НТ (r=+0,87), ГВК (r=-0,81) і ГАМК (r=+0,75). Сполука 18 відновлювала кількість кореляцій, що формувалися навколо кількості болюсів (ключовий показник тривожності) в обох тестах.

Аналіз стану ангедонії та її корекції за умов експериментального неврозу доповнюють механізми дії сполуки 18, що можуть бути обумовлені серотонінергічними механізмами. Про це свідчать сильні кореляційні зв’язки між

вмістом 5-НТ у сироватці крові та кількістю підходів до поїлки (r=+0,94), перевагою вживання сахарози (r=+0,82) та загальною кількістю спожитої сахарози (r=+0,95). Значну роль у корекції стану ангедонії під впливом речовини 18 може відігравати ГАМК-ергічна система. На це вказувало формування вірогідних зв'язків між вмістом ГАМК у сироватці крові та кількістю підходів до поїлки (r=+0,83), перевагою вживання сахарози (r=+0,96) і загальною кількістю спожитої сахарози (r=+0,94). Слід відмітити, що зазначені кореляційні зв'язки були відсутні при експериментальному неврозі.

ДА – дофамін;
5-НТ – серотонін;
НА – норадреналін;
ВМК – ванілілміндальна кислота;
ГАМК – гамма-аміномасляна кислота;
ГВК – гомованілінова кислота;
ГДК – гутаматдегідрогеназа;
ГАМК-Т – трансаміназа гаммааміномасляної кислоти.
КОМТ – катехол-О-метилтрансфераза

Рис. 9. Можливі механізми дії 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду (сполуки 18)

Вочевидь, в основі виявленої високої ефективності сполуки 18 при експериментальному неврозі знаходиться комплексний вплив її переважно на моноамінергічну і ГАМК-ергічну нейромедіаторні системи головного мозку та можливі специфічні рецепторні механізми дії.

Таким чином, на підставі проведеного дослідження можна зробити висновок, що для сполуки 18 характерна виразна протитривожна, стреспротекторна дія та вона виявилась ефективною при експериментальному неврозі. При цьому сполука може мати актопротекторні, антиоксидантні та, за даними літератури, антидепресивні, церебропротекторні та ноотропні властивості (В. О. Шатілов і співавт., 2009; В. О. Шатілов, 2014; А. Г. Сидоренко, 2016).

Узагальнений спектр фармакологічної дії сполуки 18 наведено у таблиці 14.

Таблиця 14

Порівняльна характеристика фармакологічних властивостей діазепаму і сполуки 18 (2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетамід))

Фармакологічний ефект	Діазепам, 2 мг/кг	Сполука 18, 12 мг/кг
Анксіолітичний	+	+
Стреспротективний	+	+
Антиоксидантний	+/–	+
Потенціювальний	+	+/–
Толерантність	+	–
Антидепресивний	+/–	+
Актопротекторний	–	+
Протисудомний	+	+
Міорелаксуючий	+	–
Кардіопротекторний	–	+
Гепатопротекторний	–	+
Нефропротекторний	–	–

Примітки:
1. «+» – статистично значущий ефект;
2. «+/–» – непостійний (тенденційний) ефект;
3. «–» – відсутній ефект.

Встановлено, що речовина є низькотоксичною, не викликала толерантності та міорелаксації, не погіршувала процеси пам’яті та є перспективною для подальшої розробки з метою створення на її основі лікарського засобу для терапії невротичних, пов’язаних зі стресом та соматоформних розладів.

Її можна пропонувати для подальших клінічних випробувань як новий безпечний засіб з органопротекторною дією для лікування тривожної патології, зокрема, фобічних тривожних розладів, агорафобій, соціофобій, панічних розладів, генералізованих тривожних розладів, змішаних тривожних та депресивних розладів, посттравматичних стресорних розладів, обсесивно-компульсивних розладів, астенії,

реакцій на тяжкий стрес та розлади адаптації, дисоціативних (конверсійних) розладів, соматоформних розладів, соматоформних вегетативних дисфункцій та інших невротичних розладів, а також для профілактики стресових станів і пролонгації наркозу перед оперативним втручанням.

ВИСНОВКИ

Поширеність та соціальна значущість психічної патології, зокрема невротичних, пов'язаних зі стресом, і соматоформних розладів вимагає пошуку нових безпечних і високоефективних засобів для їх фармакокорекції. Похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти виявляють виразні антигіпоксичні, антиоксидантні, анксіолітичні, органопротекторні, антидепресивні, церебропротекторні та ноотропні властивості. У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове експериментальне вирішення наукової проблеми, пов'язаної з пошуком, дослідженням та створенням на основі похідних 2-оксоіндоліну нових потенційних нейротропних засобів з органопротекторною дією, яких першочергово потребує сучасна нейрофармакологія.

Дисертація репрезентує результати пошуку сучасних ефективних нейротропних засобів у ряду похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Встановлена нова перспективна речовина для покращення лікування невротичних, пов'язаних зі стресом і соматоформних розладів, а також сполуки з виразними антидепресивними та актопротекторними властивостями. Показана значна захисна дія сполуки-лідера при експериментальному неврозі та розкриті механізми її ефективності.

1. За результатами комп'ютерного прогнозу в програмах PASS і GUSAR встановлено, що 24 похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти низькотоксичні, мають імовірність виявляти нейротропну (анксіолітичну, протисудомну, снодійну, ноотропну та ін.), антигіпоксичну, протизапальну, протипухлинну, противірусну дію, впливають на 5-НТ-, ГАМК-, NMDA- і ANMP-рецептори та пригнічують ГАМК-амінотрансферазу. Відібрано 12 перспективних біологічно активних речовин, що можуть мати анксіолітичну активність і бути ефективними при невротичних станах. Серед похідних 2-оксоіндоліну в етологічних тестах виявлено сполуку 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетамід (шифр 18), що за результатами скринінгу чинила анксіолітичну дію. Про це у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» свідчить збільшення кількості виходів щурів у відкритий рукав у 1,5 разу ($p<0,001$) і часу перебування у відкритому рукаві в 2,7 разу ($p<0,001$), збільшення кількості зазирань до низу з лабіринту й зменшення болюсних кульок в 1,9 разу ($p<0,001$). У тесті «чорно-біла камера» дана речовина зменшувала латентний період першого визиранья тварин в 1,4 разу ($p<0,01$) і виходу в 1,6 разу ($p<0,001$), збільшувала кількість і час визирання в освітлений відсік камери та зменшувала кількість болюсних кульок в 1,9 разу ($p<0,001$). Речовина 18 зменшувала латентний період першого караного взяття води з поїлки в 1,7 разу ($p <0,001$) і збільшувала кількість підходів до поїлки в 1,9 разу ($p<0,001$).

2. За результатами лінійного дискримінантного аналізу емоційно-поведінкових реакцій встановлена сполука-лідер, що наближала показники тварин до таких при застосуванні діазепаму. Гостра токсичність сполуки 18 при в/о введенні нижча у

88 разів за токсичність діазепаму. ED_{50} на щурах при в/о введенні дорівнювала 11,9±2,85 мг/кг.

3. При тривалому застосуванні (30 днів) 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетамід, на відміну від препарату порівняння діазепаму, не виявляв ознак толерантності, що характеризувалось активнішим впливом на емоційно-поведінкові реакції в тестах «конфліктної поведінки» і «піднесений хрестоподібний лабіринт», і не викликав міорелаксації, що підтверджувалося відсутністю падінь щурів у тесті «вертикальний екран». Сполука 18 посилювала наркозний ефект тіопенталу-натрію, на що вказувало зменшення латентного періоду настання наркозу в 1,3 разу ($p<0,05$) і збільшення його тривалості на 37 %.

4. Речовина 18 при гострому іммобілізаційному стресі запобігала розвитку тріади Сел'є, в крові та тканинах експериментальних тварин (головний мозок, печінка, міокард, сім'яні залози) попереджувала розлади метаболічних процесів, про що свідчило зниження вмісту ТБК-АП, відновлення активності антиоксидантних ферментів СОД і каталази, зменшення рівня сечової кислоти й креатиніну в 1,2 разу ($p<0,01$), прямого білірубіну в 2,1 разу ($p<0,001$) і непрямого білірубіну в 3,1 разу ($p<0,001$). Сполука-лідер на тлі гострого стресу в специфічних поведінкових тестах попереджувала розлади емоційно-поведінкових реакцій.

5. Сполука 18 виявляла антагонізм до дії клонідину в тесті «відкрите поле» у вигляді вірогідного зменшення латентного періоду першого переміщення, збільшення кількості виходів до центру «відкритого поля» в 2,5 разу, кількості перетнутих квадратів у 2,1 разу, кількості вставань у 2,4 разу, а також зменшення кількості болюсних кульок у 3,2 разу ($p<0,001$). Вона була активнішою за діазепам і виявляла аналогічну дію навіть через 24 год. Сполука 18 потенціювала ефекти малих доз L-ДОФА (100 мг/кг), що супроводжувалося посиленням екзофтальму, гіперсалівації та пілоерекції в усі терміни на відміну від діазепаму. Дана речовина не потенціювала ефекти 5-окситриптофану (50 мг/кг) і зменшувала кількість хитань головою на тлі введення 300 мг/кг попередника 5-НТ, що свідчило про антисеротонінову дію. Вона чинила М-холіно- і Н-холіноблокувальну дію, яка підтверджувалася при комбінованому введенні з ареколіном збільшенням латентного періоду початку тремору в 2,2 разу ($p<0,001$), зменшенням загальної тривалості тремору в 1,8 разу ($p<0,001$) і зменшенням тривалості гіперкінезів на тлі Н-холіноміметика нікотину. Спостерігалося посилення ГАМК-ергічної нейротрансмісії, про що свідчило збільшення тривалості латентного періоду початку судом в 1,9 разу ($p<0,001$), а також зменшення кількості судомних актів, кількості, тривалості, інтенсивності конвульсій і летальності тварин, що викликали пентилентетразол і пікротоксин.

6. Виразна протективна дія сполуки 18 при експериментальному неврозі (30 днів) супроводжувалася корекцією емоційно-поведінкових реакцій щурів у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт», що підтверджувалося збільшенням кількості виходів у 2,7 разу ($p<0,001$), часу перебування у відкритій частині лабіринту в 1,9 разу ($p<0,001$). Ця речовина коригувала кількість зазирань донизу та зменшувала кількість болюсів у 2,0 рази ($p<0,001$). У тесті «чорно-біла камера» сполука-лідер у щурів зменшувала латентний період першого визирання в 1,3 разу ($p<0,01$), вірогідно збільшувала кількість і час визирання в освітлений відсік камери в 1,6 разу

і в 1,5 разу та зменшувала латентний період першого виходу й кількість виходів у 1,3 разу і 1,6 разу відповідно. Вона вірогідно збільшувала час перебування тварин в освітленому відсіку камери в 1,8 разу й зменшувала кількість болюсів у 1,3 разу. На тлі неврозу коригувала ангедонію, що підтверджувалося збільшенням кількості підходів до поїлки з сахарозою в 1,4 разу ($p<0,02$) і збільшенням кількості випитої сахарози в 1,3 разу ($p<0,02$).

7. Сполука 18 при тривалому введенні не впливала в інтактних щурів на рівень моноамінів у крові, продуктів їх метаболізму в сечі та показники ГАМК-ергічної системи: вміст глутамінової кислоти, активність ГДК, ГАМК-Т і вміст ГАМК у сироватці крові. В основі її захисної дії при експериментальному неврозі знаходиться зменшення рівня адреналіну, збільшення рівня НА в середньому в 1,4 разу ($p<0,01$) та ДА і 5-НТ у 2 рази ($p<0,002$) в крові, зменшення кількості продуктів обміну моноамінів і нормалізація їх співвідношення.

8. Позитивна дія сполуки-лідера при неврозі обумовлена зниженням вмісту глутамінової кислоти в 1,5 разу ($p<0,002$), підвищенням вмісту ГАМК у 2,1 разу ($p<0,001$) у сироватці крові, підвищенням активності ГДК в 1,3 разу ($p<0,001$) і нормалізацією активності ГАМК-Т у тканинах головного мозку. Це підтверджувалося відновленням відсутніх при неврозі сильних кореляцій у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» між кількістю виходів у відкритий рукав та вмістом ДА ($r=+0,80$), 5-НТ ($r=+0,80$), ГВК ($r=-0,87$), ВМК ($r=-0,82$), глютамінової кислоти ($r=-0,89$) і ГАМК ($r=+0,75$). У тесті «чорно-біла камера» кількість виходів до освітленого відсіку утворювала 13 сильних кореляцій, зокрема з вмістом ДА ($r=+0,93$), 5-НТ ($r=+0,87$), ГВК ($r=-0,81$) і ГАМК ($r=+0,75$). Корекція харчової поведінки, можливо, зумовлена серотонінергічними механізмами. Про це свідчили значущі кореляційні зв’язки між вмістом 5-НТ у сироватці крові та кількістю підходів до поїлки ($r=+0,94$), перевагою вживання сахарози ($r=+0,82$) та загальною кількістю спожитої сахарози ($r=+0,95$). Формування вірогідних зв’язків між вмістом ГАМК у сироватці крові та кількістю підходів до поїлки ($r=+0,83$), перевагою вживання сахарози ($r=+0,96$) і загальною кількістю спожитої сахарози ($r=+0,94$), що були відсутні при експериментальному неврозі, можуть верифікувати участь ГАМК-ергічної системи.

9. Серед 18 похідних 2-оксоіндолінів виявлені сполуки 18, 15, 1-Ф, 3.85, 18-4, 18-5 і ГАК з виразною антидепресивною активністю. За даними тесту Порсолта через 1 год після введення речовина 18 збільшувала час настання першої іммобільності в 2,6 разу ($p<0,001$) і зменшувала загальний час іммобільності в 7,1 разу ($p<0,001$). Уведення сполуки 15 і 3.85 вірогідно пролонгувало латентний період першої іммобільності та зменшувало загальний час іммобільності. На тлі дії сполуки ГАК тварини вільно плавали протягом шести хвилин, речовина 1-Ф збільшувала час настання першої іммобільності в 2,1 разу ($p<0,001$), зменшувала загальний час іммобільності в 12 разів ($p<0,001$). Через 24 год сполуки 18, 1-Ф, Гіп-1, 18-4, 18-5 і ГАК виявляли антидепресивну активність у тесті «вимушеного плавання», на що вказувало збільшення часу настання першого періоду іммобільності та зменшення загального часу іммобільності. У бліц-тесті «підвішування за хвіст» через 1 год після введення речовини 3.85, ГАК і 1425 виявляли виразну антидепресивну дію, а через 24 год – сполуки Гіп-1 і ГАК.

Актопротекторні властивості в плавальному тесті з додатковим навантаженням при t = 24–26 °С виявляли сполуки 18, 15, ГАК, Гіп-1 та 1407. Фригопротекторною дією (t = 100 °С) за ускладнених умов характеризувалися речовини 18, К, 3.85, Гіп-1, Е-38 та 1407, а сполука 15 переважала етилтіобензімідазол. За умов гіпертермії (+40 °С) захисну дію виявляли сполуки 18, 15, 2-Т, К, 3.85, ГАК, Гіп-1, 1425 і 1407.

10. Сполука 18 (12 мг/кг) виявляла кардіопротекторну дію, що за умов адреналінового міокардиту перевищувала таку в етилметилгідроксипіридину сукцинату й верифікована за відновленням ЕКГ показників (тривалість PQ, QT, P, T і систолічним показником) і біохімічних маркерів функціонального стану серцевого м'язу, а також морфологічно – за мінімізацією проявів ішемії та дистрофії міокарду щурів. На тлі гострого тетрахлорметанового гепатиту сполука-лідер виявляла гепатопротекторну активність, на що вказувало зменшення КМ печінки в 1,2 разу ($p<0,02$), гіперферментемії (АлАТ в 1,6 разу ($p<0,001$) і АсАТ в 1,7 разу ($p<0,001$) в сироватці крові; ефективно коригувала кон'югаційно-екскреторну функцію печінки, за рахунок зменшення в сироватці крові вмісту загального білірубіну та його фракцій і запобігала порушенням гістоструктури органу. Сполука 18 суттєво не впливала на етиленгліколеве та гліцерол-індуковане гостре ураження нирок.

11. Сполука 18 виявляє анксіолітичні, стреспротективні, антидепресивні та протисудомні властивості, в основі яких може знаходитися комплексний вплив переважно на ГАМК-ергічну й моноамінергічну нейромедіаторні системи. Кардіо-, гепатопротекторна, антиоксидантна та актопротекторна дія, можливо, зумовлена зменшенням чутливості тканин до нестачі кисню та оптимізацією клітинного дихання. Отримані результати є експериментальним обґрунтуванням пошуку нейротропних засобів з органопротекторною дією серед нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти та доводять перспективність і доцільність поглибленого вивчення для розробки на їх основі перспективних препаратів для лікування невротичних станів, пов'язаних зі стресом, соматоформних розладів, особливо при поєднанні з захворюваннями серця та печінки, а також ефективних антидепресантів і актопротекторів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Важнича О. М., Болотов В. В., Колісник С. В. Пошук біологічно активних речовин зі стреспротективною активністю в ряду нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. *Вісник фармації.* 2007. № 3 (51). С. 67–69. (*Особистий внесок – моделювання гострого стресу, узагальнені результати дослідження та підготовлена стаття до друку*).

2. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Колісник С. В., Болотов В. В. Вплив похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на емоційно-поведінкові реакції у щурів. *Вісник фармації*. 2008. № 1 (53). С. 76–78. (*Особистий внесок – проведення аналізу джерел літератури, виконання експерименту, узагальнення результатів дослідження та підготовка статті до друку*).

3. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Колісник С. В., Болотов В. В. Вплив похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на фізичну витривалість тварин за умов гіпотермії. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2008.

Т. 3, № 3. С. 89–92. (*Особистий внесок – проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження та підготовка статті до друку*).

4. Луценко Р. В. Використання тесту «відкрите поле» для пошуку стреспротективних речовин серед похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2008. № 2. С. 70–72.

5. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Сидоренко А. Г., Колісник С.В., Болотов В. В. Вплив похідного 2-оксиіндолін-3-гліоксилової кислоти на емоційно-поведінкові реакції щурів при гострому стресі. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2010. № 3 (10). С. 3–7. (*Особистий внесок – моделювання гострого стресу в щурів, опрацювання, узагальнення результатів дослідження та підготовка статті до друку*).

6. Луценко Р. В. Корекція похідними 2-оксоіндолінів порушень метаболічних процесів у печінці при гострому стресі. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2010. Т. 10, вип. 4 (32). С. 102–105.

7. Сидоренко А. Г., Луценко Р. В. Антидепресивна активність похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти при моделюванні клофелінової депресії. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. – 2012. Т. 12, вип. 4 (40). С.161–164. (*Особистий внесок – моделювання клофелінової патології і вивчення ефективності сполуки 18 на її тлі, збір і статистичний аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку*).

8. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. А. Антиоксидантні властивості N-(1-нафтил)амід-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти при гострому стресі. *Вісник проблем біології і медицини*. 2012. Т. 1 (94), вип. 3. С. 74–77. (*Особистий внесок – відтворення гострого стресу у тварин, проведення статистичного аналізу, узагальнення результатів дослідження та підготовка статті до друку*).

9. Луценко Р. В. Дев'яткіна Т. А. Дослідження анксиолітичної активності N-(1-нафтил)амід-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти при моделюванні неконфліктної поведінки у щурів. *Вісник проблем біології і медицини*. 2012. Т. 2 (95), вип. 3. С. 82–85. (*Особистий внесок – відтворення експериментальної моделі, аналіз результатів дослідження, написання та підготовка статті*).

10. Луценко Р. В., Сидоренко А. Г., Бобирьов В. М. Вплив 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на ефекти малих доз L-3,4-диоксифенілаланіну. *Проблеми екології та медицини*. 2013. Т. 17, № 1–2. С. 70-73. (*Особистий внесок – проведення експерименту з уведенням L-3,4-диоксифенілаланіну і сполуки 18, опрацювання, статистичний аналіз даних та написання статті*).

11. Луценко Р. В. Дослідження впливу похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на снодійні ефекти тіопенталу-натрію. *Світ медицини та біології.* 2013. № 3 (39). С. 30–32.

12. Луценко Р. В., Бобырев В. Н., Девяткина Т. А. Анксиолитическое действие производных 2-оксииндолин-3-глиоксиловой кислоты: компьютерное прогнозирование и экспериментальное подтверждение. *Казанский медицинский журнал*. 2013. Т. 94, № 4. С. 553–560. (*Особистий внесок – комп'ютерне прогнозування, проведення експериментальної частини роботи, узагальнення результатів дослідження, написання та підготовка статті до друку*).

13. Луценко Р. В. ГАМК-ергічна система та її роль у анксіогенезі. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2014. Т. 14, вип. 4 (48). С. 272–276.

14. Луценко Р. В. Экспериментальная оценка противосудорожного действия производного 2-оксииндолин-3-глиоксиловой кислоты. *Казанский медицинский журнал*. 2015. Т. 96, № 2. С. 203–208.

15. Луценко Р. В., Бобырев В. Н. Изучение влияния производных 2-оксииндолин-3-глиоксиловой кислоты на тонус скелетных мышц в тесте «вертикальный экран» *Эксперимeтальная и клиническая фармакология*. 2015. Т. 78, № 4. С.4–6. **(***Особистий внесок – проведення експерименту статистичний аналіз та узагальнення результатів дослідження, написання і підготовка статті до друку*).

16. Луценко Р. В., Весніна Л. Е., Сидоренко А. Г., Дев'яткіна Т. О. Микитюк М. В. Рівень моноамінів у інтактних щурів при тривалому застосуванні 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміда. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2015. Т. 15, № 4 (52). С. 250–253. (*Особистий внесок – брав участь у проведенні експерименту, узагальненні результатів дослідження, написанні та підготовці статті до друку*).

17. Луценко Р. В., Весніна Л. Е., Сидоренко А. Г., Микитюк М. В. Вплив N-(1-нафтил)амід-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на систему ГАМК при експериментальному неврозі. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2016. Т. 16, № 2 (54). С. 234–237. (*Особистий внесок – відтворення експериментального неврозу, аналіз і узагальнення результатів дослідження, статистична обробка даних та оформлення статті до друку)*.

18. Сидоренко А. Г., Луценко Р. В. Влияние этилового эфира и амида 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты на эффекты апоморфина у крыс. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2016. Т. 55, № 3. С. 123–127. (*Особистий внесок – моделювання патології, відбір і підготовка матеріалу, статистичний аналіз і узагальнення результатів дослідження написання та підготовка статті до друку)*.

19. Lutsenko R. V., Vakhnenko A. V., Vlasova E. V. Research of the protection actions of derived 2-oxoindole in acute stress. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. T. LXX, № 1. P. 57–61. (*Особистий внесок – моделювання гострого стресу, статистична обробка та узагальнення результатів дослідження, написання та підготовка статті до друку*).

20. Lutsenko R. V., Sydorenko A. G., Bobyriov V. M. Anhedonia at experimental models of chronic stress and its correction. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. T. LXX, № 4. P. 745–750. *(Особистий внесок – відтворення експериментального неврозу, аналіз, узагальнення результатів дослідження, написання та підготовка статті до друку*).

21. Луценко Р. В. Встановлення токсичності 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміду. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Т. 1 (139), вип. 4. С. 190–193.

22. Lutsenko R. V., Vlasova E. V., Kolot E.G., Gladka V. M., Sidorenko A. G. The exchange of monoamines during the experimental neurosis on the background of using of amide «2-hydroxy-n-naphthalen-1-yl-2-(2-oxo-1,2-dihydroindol-3-ylidene)». *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. T. LXX, № 5. P. 895–900. *(Особистий внесок – брав участь у проведенні*

експерименту, узагальненні результатів дослідження, написанні та підготовці статті до друку).

23. Луценко Р. В., Цивунін В. В., Койро О. О., Лар'яновська Ю. Б. Експериментальне дослідження кардіопротекторної дії 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. № 6 (13). С. 407-416. *(Особистий внесок – опрацювання, узагальнення результатів дослідження та підготовка статті до друку).*

24. Дев'яткіна Т. О., Колісник С. В., Болотов В. В., Важнича О. М., Луценко Р. В. Застосування N-(1-нафтил)аміду-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як стреспротективного засобу: пат. 89551 України на винахід: МПК C07C 59/00, C07D209/00, A61P 25/00. № a 200802048 ; заявл. 25.08.2008 ; опубл. 10.02.2010, Бюл. № 3. *(Особистий внесок – брав участь у проведенні експерименту, патентно-інформаційному пошуку, опрацюванні першоджерел і підготовці патенту*).

25. Болотов В. В., Колісник С. В., Дев'яткіна Т. О., Луценко Р. В., Сидоренко А. Г. Застосування похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як засобів з актопротекторною дією: пат. 92646 України, МПК А 61К 31/4045, А61Р 43/00. № а 200815305; заявл. 30.12.2008 ; опубл. 25.11.2010, Бюл. № 22. *(Особистий внесок – брав участь у патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту*).

26. Болотов В. В., Колісник С. В., Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Сидоренко А. Г. Застосування похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як засобів з антидепресивною дією: пат. 106105, Україна, МПК А61К 31/33, А61К 31/404, А61Р 25/24. / (UA) № а 201209135; заяв. 25.07.2012; опубл.25.07.2014, бюл. №14. *(Особистий внесок – брав участь у проведенні експерименту, патентно-інформаційному пошуку, опрацював першоджерел та підготував опис патенту*).

27. Луценко Р. В., Девяткина Т. А., Сидоренко А. Г. Дозозависимые эффекты нового производного 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты в тесте «открытое поле». *Вісник Вінницького державного медичного університету*. 2008. № 1. С. 246.

28. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Колісник С. В. Скринінг нейротропної активності серед похідних 2-оксоіндоліну: тези доповідей *XII Конгресу Світової федерації українських лікарських товариств*, Івано-Франківськ, 25–28 вересня 2008 р. Івано-Франківськ, Київ-Чікаго, 2008. С. 450.

29. Луценко Р. В., Луценко О. А. Антиоксидантные свойства производных 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты при остром стрессе *«Человек и лекарство». XVII Российский национальный конгресс*, Москва, 12–16 апреля 2010 г. Москва, 2010. С. 668-669.

30. Луценко Р. В. Попередження похідним 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти порушень детоксикаційних процесів при гострому стресі. *XIII Конгрес Світової федерації українських лікарських товариств*, Львів 30 вересня - 2 жовтня 2010р. Львів-Київ-Чікаго, 2010. С. 610.

31. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Колісник С. В., Болотов В. В. Антиоксидантна активність похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти при гострому стресі. *Фармація України. Погляд у майбутнє*: мат. VII Національного з'їзду фармацевтів України, Харків, 15-17 вересня 2010 р. Харків, 2010. Т. 2. С. 67–68.

32. Луценко Р. В., Бобирьов В. М. Вплив похідного 2-оксоіндоліну на спонтанні та модифіковані гострим стресом емоційно-поведінкові реакції щурів: Матеріали IV Національного з'їзду фармакологів, Київ, 10–12 жовтня 2011 р. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2011. № 5 (24). С. 196–197.

33. Луценко Р. В., Важничая Е. М. Нейротропная активность производных 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты как закономерное эволюционное свойство соединений этого ряда. *Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения*: мат. науково-практичної конференції, Новий Світ, Крим, Україна 23-28 травня 2011 р. Новий Світ, Крим, 2011 . С. 551–552.

34. Луценко Р. В., Сидоренко А. Г. Antidepressive activity of derivatives 2-oksoindolin. *Targeting cellular regulatory systems*: International Conference Pharmacology, Рига, Латвія, 20–21 квітня 2012 р. Рига, 2012. С. 49.

35. Бобирьов В. М., Луценко Р. В. Перспективи створення нових нейротропних засобів на основі похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти: *Інноваційні технології в медицині. Проблеми та їх вирішення:* мат. Всеукраїнської науково-методичної конференції. Полтава, 23 березня 2012 р. Проблеми екології та медицини. 2012. Т. 17, № 1–2 (додаток 1). С. 8–9.

36. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Луценко О. А. Доклінічне дослідження актопротекторних властивостей похідних 2-оксоіндоліну. *Клінічна фармація: 20 років:* мат. Національного конгресу, 21-22 березня 2013 р. Харків. 2013. С. 143.

37. Lutsenko R. V., Sydorenko A. H., Bobyriov V. M. Effects of derivatives of 2-oxoindoline-3-glioxylic acid against small doses of L-3,4-dihydroxyphenylalanine. *Фармакологическая нейропротекция 2013 посвящ. 90-летию Отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова*: мат. Всерос. науч. конф. с междунар. участием, Института экспериментальной медицины СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург, 18–21 сентября 2013 года. СПб., 2013. С. 159–160.

38. Луценко Р. В., Бобирьов В. М. Вплив похідних 2-оксоіндоліну на тонус скелетних м'язів. *Актуальні питання безпечного застосування ліків:* мат. Науково-практичної конференції, Тернопіль, 17–18 жовтня 2013 р. Тернопіль, 2013. С. 42–43.

39. Бобирьов В. М., Луценко Р. В., Сидоренко А. Г. Аналіз нейротропної дії похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. *Безопасность и нормативно-правовое сопровождение лекарственных средств: от разработки до медицинского применения, посвященная памяти д.мед. н., проф. Викторова Алексея Павловича*: мат. третьей научно-практической конференции, Киев, 23–24 октября 2013 г. Киев, 2013. С. 100–101.

40. Луценко Р. В., Сидоренко А. Г., Бобирьов В. М. Скринінг психотропної дії похідних 2-оксоіндоліну. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: мат. I науково-практичної конференції. Харків. 2017, 30–31 березня. Харків, 2017. Т. 2. С. 203.

41. Луценко Р. В., Бобирьов В. М. Ефективність похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти при експериментальному неврозі: мат. IV Національного з'їзду фармакологів, Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 82.

42. Луценко Р. В. Гепатопротекторні властивості 2-гідрокси-n-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду при тетрахлорметановому гепатиті у щурів. *«Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна*

корекція»: мат. II науково-практичної конференції з міжнародною участю. Харків. 2019, 21 листопада 2019 р. С. 239.

43. Луценко Р. В., Бобирьов В. М, Дев'яткина Т. А., Сидоренко А. Г. Інноваційні перспективи застосування похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в якості анксіолітичного засобу : інформ. лист Укрмедпатентінформу МОЗ України №100-2014. К., 2014 5 с.

44. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Сидоренко А. Г., Болотов В.В., Колісник С. В. Застосування похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як засобів з актопротекторною дією. *Реєстр галузевих нововведень*. 2013. № 38-39, ч. II. – С. 121-122.

45. Луценко Р. В. Дев'яткіна Т. О., Важнича Е. М., Болотов В.В., Колісник С. В. Спосіб застосуваня N-(1-нафтил)аміду-2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти для фармакологічної корекції порушень, індукованих гострим стресом. *Реєстр галузевих нововведень*. 2013. № 38–39, ч. II. С.122–123.

46. Луценко Р. В., Бобирьов В. М., Дев'яткіна Т. О., Сидоренко А. Г. Інноваційні перспективи застосування похідного 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти в якості антидепресивного засобу : інформ. лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 100-2015. К., 2015. 5 с.

47. Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Сидоренко А. Г., Колісник С. В. Похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, що проявляють антидепресивну активність: Реєстр галузевих нововведень. – 2016. - № 610/2/15. – С. 499-500.

48. Бобирьов В. М., Мамчур В. Й., Луценко Р. В., Дев'яткіна Т. О., Сидоренко А. Г., Хомяк О. В. Експериментальне вивчення нових антидепресивних засобів : методичні рекомендації. К.: ДЕЦ, 2014. 39 с.

АНОТАЦІЯ

Луценко Р. В. Фармакологічні властивості нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як перспективних нейротропних засобів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

У дисертаційній роботі в ряду перспективних похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти здійснено пошук сполук з нейротропною і органопротекторною дією, з'ясовані фармакологічні властивості та механізм дії сполуки-лідера. Проведено скринінг речовин серед похідних 2-оксоіндоліна на наявність анксіолітичною активності шляхом комп'ютерного прогнозування та аналізу емоційно-поведінкових реакцій щурів в етологічних тестах. Встановлена гостра токсичність, середня ефективна анксіолітична доза 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду (сполука 18) і його терапевтичний індекс. Показано, що сполука-лідер не викликала толерантності, чинила протективну антиоксидантну і метаботропну дії при гострому стресі та посилювала наркозний ефект тіопенталу-натрію. Нейрофармакологічний аналіз показав, що речовина 18, очевидно, блокувала пресинаптичні α_2-адренорецептори, стимулювала адренергічну нейротрансмісію, посилювала ефекти малих доз L-3,4-діоксифенілаланіну, що може свідчити про накопичення ДА, активації D_1-ауторецепторов і обмеження викиду ДА в синапс, а також чинила антисеротонінергічну дію. Протекторна дія сполуки 18 при неврозі

може бути обумовлена регуляцією моноамінергічних процесів, ГАМК-міметичною активністю, збільшенням кількості ГАМК, зниженням глутамінової кислоти, підвищенням ГДК і пригніченням активності ГАМК-Т в тканинах головного мозку. Речовина 18 надавала кардіопротекторну і гепатопротекторну дію. У похідних 2-оксоіндоліну встановлена атидепресивната актопротекторна активність. Сполука 18 є перспективною для розробки та створення на її основі засобу для лікування невротичних, пов'язаних зі стресом, і соматоформних розладів.

Ключові слова: похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, анксіолітична, стреспротекторна, антиоксидантна, органопротекторна, антидепресивна, актопротекторна дії, невроз, моноаміни, гамма-аміномасляна кислота.

АННОТАЦИЯ

Луценко Р. В. Фармакологические свойства новых производных 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты как перспективных нейротропных средств. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология. Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харков, 2021.

В диссертационной работе в ряду перспективных производных 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты осуществлен поиск соединений с нейротропным и органопротекторным действием, выяснены фармакологические свойства и механизм действия соединения-лидера. Проведен скрининг веществ среди производных 2-оксоиндолина на наличие анксиолитической активности путем компьютерного прогнозирования и анализа эмоционально-поведенческих реакций крыс в этологических тестах. Установлена острая токсичность, средняя эффективная анксиолитическая доза 2-гидрокси-N-нафтален-1-ил-2-(2-окси-1,2-дигидро-индол-3-илиден)-ацетамида (соединение 18) и его терапевтический индекс. Показано, что соединение-лидер не вызывало толерантности, оказывало протекторное антиоксидантное и метаботропное действие при остром стрессе и усиливало наркозный эффект тиопентал-натрия. Нейрофармакологической анализ показал, что вещество 18, очевидно, блокировало пресинаптические α_2-адренорецепторы, стимулировало адренергическую нейротрансмиссию, усиливало эффекты малых доз L-3,4-диоксифенилаланина, что может свидетельствовать о накоплении ДА, активации D_1-ауторецепторов и ограничении выброса ДА в синапс, а также оказывало антисеротонинергическое действие. Протекторное действие соединения 18 при неврозе может быть обусловлено регуляцией моноаминергических процессов, ГАМК-миметической активностью, увеличением количества ГАМК, снижением глутаминовой кислоты, повышением ГДК и угнетением активности ГАМК-Т в тканях головного мозга. Вещество 18 оказывало кардиопротекторное и гепатопротекторное действие. У производных 2-оксоиндолина установлена антидепрессивная и актопротекторная активность. Соединение 18 является перспективным для разработки и создания на его основе средства для лечения невротических, связанных со стрессом, и соматоформных расстройств.

Ключевые слова: производные 2-оксоиндолин-3-глиоксиловой кислоты, анксиолитическое, стреспротекторное, антиоксидантное, органопротекторное,

антидепрессивное, актопротекторное действие, невроз, моноамины, гамма-аминомасляная кислота.

ABSTRACT

R.V. Lutsenko. Pharmacological properties of new 2-oxoindolin-3-glyoxylic acid derivatives as prospective neurotropic drugs. – Manuscript.

Thesis for a Doctor Medicine degree on the specialty 14.03.05. – Pharmacology. National Pharmaceutical University of Ministry of Health Care. – Kharkiv, 2021.

New derivatives of 2-oxoindolin-3-glyoxylic acid with neuropsychotropic action were theoretically and experimentally investigated, and pharmacological peculiarities and mechanisms of action of the leader compound (substance 18) between these potential neuropsychotropic agents were determined. A screening study based on the results of computer programs PASS and GUSAR detected that they are low-toxic, possess neurotropic (anxiolytic, anticonvulsant, hypnotic, nootropic, etc.), antihypoxic, anti-inflammatory, antitumor, antiviral actions, influence 5-HT, GABA-, NMDA- and ANMP-receptors and inhibit GABA-aminotransferase. Changes in rats' emotional and behavioral reactions in specific ethological tests for the presence of anxiolytic properties were analyzed. According to the results of a linear discriminant analysis of emotional and behavioral reactions, it was identified a leader compound that approximated indices of animals to favorable effect during diazepam intake.

It was found that 2-hydroxy-N-naphthalen-1-yl-2- (2-oxo-1,2-dihydro-indol-3-ylidene)-acetamide (laboratory code 18) when it was administered intraperitoneally to mice at LD_{50} (3250±159 mg/kg) belongs to relatively harmless substances (VI class of toxicity) and its toxicity in 88 times is lower than the same of diazepam. When it was administered intraperitoneally to rats, the ED_{50} was 11.9±2.85 mg/kg and therapeutic index of the compound 18 was 14.8 times higher than the same of diazepam.

During the prolonged administration (30 days) of the compound 18, contrary to diazepam, signs of tolerance were not observed. This was evidenced by the effect on the emotional and behavioral responses of rats in the tests "punishable behavior" and "elevated cruciform labyrinth". Studied substance did not cause muscle relaxation, which was confirmed by the absence of falls in the test "vertical screen," and potentiated the narcosis effect of thiopental- sodium.

Protective and metabotropic properties during the acute stress are shown. 2-Hydroxy-N-naphthalen-1-yl-2-(2-oxo-1,2-dihydro-indol-3-ylidene)-acetamide prevented the development of Selye triad. In the blood and tissues, it prevented the disturbance of prooxidant-antioxidant balance and disorders of purines and bilirubin metabolism. The leader compound effectively corrected emotional and behavioral reactions in specific behavioral tests under the stress conditions.

During neuropharmacological analysis of the mechanisms of action of the compound 18, it was determined that it has exhibited an antagonism with clonidine, enhanced the effects of low doses of L-3,4-dioxyphenylalanine, that may indicate the accumulation of DA, activation of D_1-autoreceptors and limiting the release of mediator at synapses. This substance, is likely, can block presynaptic $5\text{-}HT_{2A}$ receptors and 5-HT reuptake, that was confirmed by the interaction with various doses of 5-oxytryptophan. Protective effect of the compound 18 in the experimental neurosis was manifested in

positive effect on emotional and behavioral responses in the tests “elevated cruciform labyrinth”, “black and white camera”, accompanied by the correction of anhedonia and associated with a regulation of monoaminergic processes as a result of adrenaline level decrease, an increase the concentration of NA, DA and 5-HT in the blood, and a decrease the amount of monoamine metabolism products and normalizing of their ratio. It is also associated with GABA-mimetic activity, which was accompanied by an increase in GABA content, a decrease in a glutamic acid concentration, an increase in GAD activity and inhibition of GABA-T activity in the brain tissues. In favor of such mechanisms, the restoration under the influence of compound 18 some strong correlations, which have been absent during neurosis, testified. There were strong correlations in the test “elevated cruciform labyrinth” between the number of exits to the “open sleeve” and the content of DA (r=+0.80), 5-HT (r=+0.80), HVA (r= –0.87), VMA (r= –0.82), glutamic acid (r= –0.89) and GABA (r=+ 0.75). Against the background of the leader compound action in the test “black and white camera”, it was found 13 strong correlations between the number of exits to the illuminated compartment and the content of DA (r=+0.93), 5-HT (r=+0.87), HVA (r= –0.81) and GABA (r=+0.75). Serotonergic regulation of consumatory behavior in neurosis by this compound was confirmed by the formation of significant correlations between the content of 5-HT in the serum and the number of approaches to drinking bowl (r=+0.94), the predominance of sucrose (r=+0.82) and total amount of consumed sucrose (r= 0.95). The formation of probable correlations between the content of GABA in blood serum and the number of approaches to drinking bowl (r=+0.83), the advantage of sucrose consumption (r=+0.96) and the total amount of consumed sucrose (r=+0.94), which were absent in the experimental neurosis, can verify the participation of the GABAergic system in the mechanism of action of the compound 18.

Compounds with expressed antidepressant properties were found among 2-oxoindoline derivatives, based on Porsolt’s test and the “tail hanging” test. However, some of them were more effective than imipramine. Also, the actoprotective activity in such compounds as 18, 15, GAK, Gip-1 and 1407 in the swimming test with additional load at t=24-26°C, frigoprotective action (t=10^0C) under the difficult conditions and thermoprotective action under the conditions of hyperthermia (t=+40°C) were revealed.

An organoprotective effect of the compound 18 (12 mg/kg) was detected. It was characterized by a positive effect on the development of adrenaline myocarditis in the form of correction of ECG parameters (duration of PQ, QT, P, T and SP), biochemical markers and morphological parameters of the heart muscle. Against the background of acute tetrachloromethane hepatitis, the compound 18 demonstrated hepatoprotective activity, which was indicated by the survival of 100% of animals, a decrease of the liver mass coefficient by 1.4 times ($p<0.01$), enzymes markers of hepatocyte damage, total bilirubin and its serum fractions. The leader compound prevented morphological changes in these organs better than ethylmethylhydroxypyridine succinate. However, the substance did not correct ethylene glycol and glycerol-induced acute kidney damage accompanied by disturbance of their structure and function.

Compound 18 can be proposed for further clinical experiments as a new safe agent for the treatment of neurotic, stress-related and somatoform disorders, including social anxiety, panic disorder, generalized anxious disorder, mixed anxiety-depressive disorder, and post-traumatic stress disorder. (emotional lability, memory impairment, decreased

concentration and attention), anxiety, fear, obsessive-compulsive disorder, as well as for the prevention of stress, especially against the background of heart and liver problems.

Key words: 2-oxoindoline-3-glyoxylic acid derivatives, anxiolytic, antioxidant, stress-protective, organoprotective, antidepressive, actoprotective actions, neurosis, monoamines, gamma-aminobutyric acid.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ED_{50}	–	середня ефективна доза;
L-ДОФА	–	L-3,4-діоксифенілаланін;
АлАТ	–	аланінамінотрансфераза;
АО	–	антиоксидантна;
АсАТ	–	аспартатамінотрансфераза;
ВМК	–	ванілілміндальна кислота;
ГАМК	–	гамма-аміномасляна кислота;
ГАМК-Т	–	трансаміназа гамма-аміномасляної кислоти;
ГВК	–	гомованілінова кислота;
ГДК	–	глутаматдекарбоксилаза;
ГУН	–	гостре ураження нирок;
ДА	–	дофамін;
D-рецептори	–	дофамінові рецептори;
ЕКГ	–	електрокардіограма;
КК-МВ	–	креатинфосфокіна́за серцева фракція;
КМ	–	коефіцієнт маси;
МАО	–	моноаміноксидаза;
М-рецептори	–	мускаринові рецептори
НА	–	норадреналін;
5-НТ	–	серотонін;
5-ОІОК	–	5-оксііндолоцетова кислота;
СОД	–	супероксиддисмутаза;
ТБК-АП	–	продукти, що реагують з тіобарбітуровою кислотою;
ЦНС	–	центральна нервова система;

Підписано до друку 15.03.2021. Формат 60х84/16. Папір офсетний.
Гарнітура Times ET. Умов. друк. арк. 1,9. Наклад 100 прим. Замов. № 0315/3-21.

Надруковано з готових оригінал-макетів у друкарні ФОП Петров В. В.
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.
Запис № 2400000000106167 від 08.01.2009 р.
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137,
тел. (057) 778-60-34, e-mail:bookfabrik@mail.ua