

АНОТАЦІЯ

Палагіна Н. Ю. Пошук нових ноотропних засобів серед похідних 4-амінобутанової кислоти та вивчення їх фармакодинаміки. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація, промислова фармація. – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

У дисертації Палагіної Н. Ю. наведено результати вивчення антиамнестичної активності 11 похідних 4-амінобутанової кислоти та дослідження 4-(бензил(метил)аміно)бутанової кислоти, яку було обрано як сполуку-лідера за антиамнестичною та антигіпоксичною активністю серед вказаних похідних за результатами фармакологічного скринінгу, її ефективності на експериментальних моделях гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) і закритої черепно-мозкової травми (ЗЧМТ) у щурів та окремих фармакологічних властивостей: вплив на фази пам'яті, тривожність, депресивність, на тонус скелетних м'язів і координацію рухів тварин, а також вивчення гострої токсичності.

Отримані в роботі дані обґрунтовують перспективність застосування сполуки-лідера як нового ноотропного засобу. Робота розширює та поглиблює знання про фармакологічні властивості похідних 4-амінобутанової кислоти та сполуки-лідера 4-(бензил(метил)аміно)бутанової кислоти за антиамнестичною активністю.

На першому етапі дослідження за результатами проведеного фармакологічного скринінгу 11 похідних 4-амінобутанової кислоти на наявність антиамнестичної активності в тесті умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) за умови скополомінової амнезії були встановлені сполуки, що виявили вірогідну активність: КГМ-1, КГМ-2, КГМ-5, КГМ-6. Серед

чотирьох найбільш активних сполук вибрано дві: КГМ-2, КГМ-5, для яких доведений дозозалежний антиамнестичний ефект.

Аналіз залежності «структура-антиамнестична активність» у досліджуваному ряду сполук показав, що введення гідроксиметильного замісника до базової сполуки сприяє підсиленню антиамнестичної активності; поєднання у структурі і бензилового і метильного замісників забезпечує високу антиамнестичну дію.

У подальшому було досліджено вплив двох сполук-лідерів за антиамнестичною активністю на стан ЦНС та досліджена їх антигіпоксична активність. Встановлено, що дві сполуки-лідери за антиамнестичною активністю виявляють вплив на функціональний стан ЦНС мишей при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні: 4-(ди(гідроксиметил)аміно)бутанова кислота (сполука КГМ-2) – дозозалежну седативну дію, яка є найбільш вираженою в дозі 50 мг/кг; 4-(бензил(метил)аміно)бутанова кислота (сполука КГМ-5) виявляє седативну дію в дозі 30 мг/кг та відсутність такої – в дозі 50 мг/кг, а також антигіпоксичну активність на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії на рівні 55% в дозі 30 мг/кг та на рівні 53% – в дозі 50 мг/кг. Отримані на цьому етапі результати обґрунтували доцільність подальшого дослідження 4-(бензил(метил)аміно)бутанової кислоти як сполуки-лідера з метою створення на її основі нового ноотропного засобу.

На наступному етапі були досліджені окремі фармакологічні властивості обраної сполуки-лідера 4-(бензил(метил)аміно)бутанової кислоти. Встановлено, що сполука КГМ-5 виявляє високу антиамнестичну активність про порушенні як першої, так другої фази пам'яті (відповідно на рівні 106,2% та 80,5%), а також чинить позитивний вплив на довгострокову пам'ять (антиамнестична активність 104,3%) і практично не впливає на третю фазу пам'яті. Встановлено, що одноразове введення сполуки КГМ-5 в умовно-ефективній дозі 30 мг/кг не підвищує тривожність тварин, не спричиняє несприятливих змін поведінки тварин, зокрема, не призводить до їх депресивності, позитивно впливає на м'язовий тонус та координацію рухів, про що свідчить вірогідне збільшення частки тварин, які утримувалися на стрижні, що обертається, впродовж перших

30 с. Встановлено, що LD_{50} сполуки КГМ-5 при внутрішньошлунковому введенні знаходиться за межами дози 5000 мг/кг, при внутрішньоочеревинному введенні становить 3430 (2780:4070) мг/кг.

В умовах ГПМК у щурів встановлена ефективність нової похідної 4-амінобутанової кислоти сполуки КГМ-5 за здатністю: зменшувати виразність неврологічного дефіциту (достовірні відмінності цього показника порівняно з контрольною патологією відповідно на першу (0,5 балу проти 1,25 балу, $p<0,05$), третю (0,0 балів проти 1,0 балу, $p<0,05$) та четверту добу (0,0 балів проти 0,5 балу, $p<0,05$)), покращувати когнітивні функції в тесті екстраполяційного вивільнення (зниження ($p<0,05$) латентного періоду піднирювання (ЛПП) порівняно з контрольною патологією в 1,8 разу); відновлювати порушений баланс збуджувальних (глутамінової та аспарагінової) та гальмівних (ГАМК та гліцину) нейромедіаторних амінокислот у головному мозку (зниження рівня збуджувальних нейромедіаторних амінокислот глутамінової та аспарагінової відповідно 14,1 проти 26,0 мкмоль/г тканини мозку ($p<0,05$) та 6,9 проти 8,2 мкмоль/г тканини мозку ($p<0,05$) та достовірне підвищення гальмівних амінокислот ГАМК та гліцину відповідно 2,9 проти 0,7 мкмоль/г тканини мозку ($p<0,05$) та 1,2 проти 0,7 мкмоль/г тканини мозку ($p<0,05$)), знижувати підвищений рівень нейромедіаторів норадреналіну та дофаміну (відповідно 0,9 проти 2,0 мкг/г тканини мозку ($p<0,05$) та 1,3 проти 1,7 мкг/г тканини мозку ($p<0,05$)) та незначно серотоніну (0,5 проти 0,3 мкг/г тканини мозку ($p>0,05$)) і підвищувати рівень ацетилхоліну (2,73 проти 2,06 мкмоль/г тканини мозку ($p<0,05$)); нормалізувати порушені енергетичні процеси (підвищення ($p<0,05$) активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) порівняно з контрольною патологією в 1,26 разу) та стан системи перекисне окислення ліпідів / антиоксидантний захист (ПОЛ / АОЗ) (підвищення ($p<0,05$) активності каталази та вмісту відновленого глутатіону (ВГ) відповідно в 1,94 та 1,25 разу і рівня продуктів, які взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП), в 1,39 разу ($p<0,05$) порівняно з контрольною патологією).

Ефективність похідної 4-амінобутанової кислоти сполуки-лідера КГМ-5 в умовах ГПМК у щурів підтверджена гістологічно. Встановлено, що під впливом сполуки КГМ-5 у СА1 зоні гіпокампу частка нормохромних нейронів достовірно ($p < 0,05$) збільшилася на 20%, частка гіперхромних клітин досягла рівня псевдо-оперованих тварин, гіпохромних нейроцитів практично не змінювалася; частка гіперхромних пікноморфних нейронів і клітин-тіней достовірно ($p < 0,05$) зменшилася у 5,8 та 2,9 разу порівняно з контрольною патологією; індекс альтерації нейронів зменшився у 6 разів, що свідчить про нейропротекторний вплив досліджуваної сполуки. Площа перикаріону цих нейронів зросла ($p < 0,05$) на 39,7%. Збільшення кількості двоядерцевих нейронів у сукупності з певним збільшенням площі перикаріону є морфологічним проявом регенераторних процесів та підвищення функціональної активності клітин. У СА1 зоні гіпокампу під впливом препарату порівняння «Пікамілон» відсоток нормохромних нейронів збільшився на 16,6%, гіперхромних пікноморфних та клітин-тіней зменшився у 6,3 і 3,5 разу відповідно, індекс альтерації зменшився у 4,8 разу, площа перикаріону цих нейронів збільшилася у 1,8 разу порівняно з контрольною патологією.

Обидва досліджувані засоби виявили менш виразний нормалізувальний вплив на СА3 зону гіпокампу: під впливом сполуки КГМ-5 індекс альтерації нейроцитів був на рівні контрольної патології, під впливом препарату порівняння «Пікамілон» площа перикаріону нейронів була на рівні контрольної патології.

Лікування щурів з ГПМК протягом 5 діб сполукою КГМ-5 помітно зменшувало ознаки порушення кровообігу в області сенсомоторної кори великих півкуль головного мозку: спазм капілярів (ні в одному з полів зору мікроскопу не спостерігали судин з діаметром меншим ніж 10 мкм, що прийнято характеризувати їх як ті, що функціонують) та периваскулярний набряк. Судини м'якої мозкової оболонки були переважно помірного кровонаповнення. Гліальна реакція у вигляді дрібних скупчень гліальних клітин та підвищеного перинейронального гліального оточення була зменшена порівняно з щурами з ГПМК без лікування, що підтверджено показниками гліо-

нейронального (0,77) та перинейронального (2,0) індексів, які були вірогідно меншими ($p < 0,05$) порівняно з контрольною патологією. Морфометричні виміри підтвердили візуальну картину: частка нормохромних нейронів достовірно ($p < 0,05$) збільшилися на 14,33%; частка гіпохромних пікноморфних нейронів достовірно ($p < 0,05$) зменшилася на 46,4%, клітин-тіней – на 62,8% порівняно з тваринами контрольної патології. Індекс альтерації пірамідних нейронів цієї області головного мозку тварин під впливом сполуки КГМ-5 був достовірно нижчим ($p < 0,05$) на 33,33% порівняно з контрольною патологією.

Лікування щурів з ГПМК сполукою КГМ-5 поліпшувало мозковий кровообіг, про що свідчать зменшення виразності спазму капілярів та перикапілярного набряку. Лікувальне введення КГМ-5 збільшувало виживання пірамідних нейронів досліджених областей головного мозку, зменшувало відносну частку незворотно змінених клітин, що підтверджено зменшенням індексу альтерації нейроцитів. Це забезпечило зменшення гліо-нейронального та перинейронального сателітного індексів. Все це свідчить про наявність у сполуки КГМ-5 церебропротекторних властивостей, за виразністю яких вона не поступається препарату порівняння «Пікамілон».

За даними морфометричного аналізу встановлено, що у щурів з ГПМК під впливом сполуки КГМ-5 відносна частка нормохромних клітин Пуркінє мозочка достовірно ($p < 0,05$) зросла на 16,55% порівняно з тваринами з групи контрольної патології. Частка гіперхромних пікноморфних нейронів достовірно ($p < 0,05$) зменшилася на 30%, хоча рівень їх ще значно перевищував такі у псевдо-оперованих щурів. Клітини-тіні зменшилися, але невірогідно на 8,35%, а індекс альтерації гангліонарних клітин був меншим ($p < 0,05$) у 2 рази проти контрольної патології.

Отже, п'ятиденне лікування щурів з ГПМК сполукою КГМ-5 поліпшувало стан кори мозочка. Введення сполуки КГМ-5 сприяло збільшенню виживань нейронів кори мозочку, зменшенню відносної частки незворотно змінених клітин, що підтверджено зменшенням індексу альтерації нейроцитів. За вираженістю нейропротекторного впливу на стан кори мозочку сполука КГМ-5 не поступалася препарату порівняння «Пікамілон».

На наступному етапі встановлена церебропротекторна активність нової похідної 4-амінобутанової кислоти сполуки КГМ-5 на моделі ЗЧМТ у щурів за здатністю зменшувати вираженість неврологічного дефіциту впродовж перших двох діб патології (0 ($0 \div 0,5$) балів проти 0,5 ($0,5 \div 1$) балу у нелікованих тварин ($p < 0,05$); запобігати зниженню локомоторної активності тварин (збільшення кількості перетнутих квадратів у 5 разів, $p < 0,05$), і як наслідок підвищення ($p < 0,05$) суми всіх видів активності в 3 рази) без зсувів орієнтовно-дослідницької активності та покращувати когнітивні функції (зниження латентного періоду піднирювання серед усіх тварин і тварин, які успішно виконували тест екстраполяційного вивільнення, порівняно з контрольною патологією в 4 рази, $p < 0,05$); нормалізовувати стан процесів ПОЛ практично на рівні інтактного контролю (вміст ТБК-АП $41,6 \pm 0,87$ проти $39,7 \pm 1,38$ мкмоль/г тканини мозку в групі нелікованих тварин, $p > 0,05$) і АОЗ (достовірне ($p < 0,05$) підвищення активності ферменту каталази в 1,49 разу і вмісту ВГ в 1,26 разу) та процесів енергозабезпечення у мозку (активність СДГ зберігалась на рівні інтактного контролю і склала $1,41 \pm 0,08$ проти $1,56 \pm 0,05$ мкмоль/г тканини мозку у групі нелікованих тварин, $p > 0,05$).

Отримані результати обґрунтовують рекомендації хімікам-синтетикам щодо цілеспрямованого синтезу потенційних ноотропних засобів серед похідних 4-амінобутанової кислоти та доцільність подальшого вивчення 4-(бензил(метил)аміно)бутанової кислоти для створення на її основі нового ноотропного препарату.

Ключові слова: похідні 4-амінобутанової кислоти; антиамнестична активність, антигіпоксична активність, 4-(бензил(метил)аміно)бутанова кислота, вплив на фази пам'яті, церебропротекторна активність, гостре порушення мозкового кровообігу, закрыта черепно-мозкова травма.

Список публікацій здобувача:

1. Міщенко О. Я., Палагіна Н. Ю., Комісаренко А. М., Голік М. Ю. Скринінгове дослідження антиамнестичної активності нових похідних 4-амінобутанової

кислоти. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т. 15, № 1. С. 10-19. (Особистий внесок – проведення експерименту, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

2. Mishchenko O., Palagina N. Experimental research of cerebroprotective activity of the new 4-aminobutanoic acid derivative. *EUREKA: Health Sciences*. 2021. №3. Р. 95-100. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

3. Mishchenko O., Palagina N., Larianovska Yu., Gorbach T., Khomenko V., Yasna N. Influence of a new derivative of 4-aminobutanoic acid on the level of neuromediator aminoacids, neuromediators and the state of the rats' hippocampus in conditions of brain ischemia. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). Р. 64-71. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

4. Міщенко О. Я., Палагіна Н. Ю., Лар'яновська Ю. Б. Вплив нового похідного 4-амінобутанової кислоти на стан сенсомоторної кори великих півкуль головного мозку щурів за умов експериментальної ішемії. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т 23, № 1. С. 27-36. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

5. Міщенко О. Я., Палагіна Н. Ю. Вплив сполук-лідерів за антиамнестичною активністю серед похідних 4-амінобутанової кислоти на функціональний стан центральної нервової системи та їхня антигіпоксична активність. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т.15, № 2. С. 75-81. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

6. Палагіна Н. Ю. Церебропротекторна активність нового похідного 4-амінобутанової кислоти в умовах експериментальної закритої черепно-мозкової травми. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т 23, № 2. С. 34-40. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка

даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

7. Мищенко О. Я., Палагіна Н. Ю., Халеева Е. Л., Грешко Ю. И. Анализ ассортимента и экономической доступности ноотропных препаратов. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2021. Т 7, № 1. С. 80-86. (Особистий внесок – проведення експерименту, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

8. Патент України на корисну модель № 120519, МПК (2017.01), А 61К 31/197 (2006.01), А 61Р 25/00. Використання похідних 4-амінобутанової кислоти як антиамнестичних засобів / М. Ю. Голік, О. Я. Міщенко, І. С. Гриценко, А. М. Комісаренко, Н. Ю. Палагіна, М. В. Міщенко; заявник і патентовласник НФаУ. № у 2017 03859; заявл. 19.04.2017; опубл. 10.11.2017. Бюл. № 21. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, проведення експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).

9. Патент України на корисну модель №120512, МПК (2017.01), А 61К 31/197 (2006.01), А 61Р 25/00. Застосування похідних 4-амінобутанової кислоти як ноотропних засобів / О. Я. Міщенко, М. Ю. Голік, І. С. Гриценко, А. М. Комісаренко, Н. Ю. Палагіна, М. В. Міщенко; заявник і патентовласник НФаУ. № у 2017 03627; заявл. 13.04.2017; опубл. 10.11.2017. Бюл. № 21. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, проведення експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).

10. Патент України на винахід № 119268, МПК, А 61К 31/197 (2006.01), А 61Р 25/28 (2006.01), С07С 53/124 (2006.01), С07С 229/06 (2006.01). Застосування похідного 4-амінобутанової кислоти як ноотропного засобу / О. Я. Міщенко, М. Ю. Голік, І. С. Гриценко, А. М. Комісаренко, Н. Ю. Палагіна, М. В. Міщенко; заявник і патентовласник НФаУ. № а 2017 03628; заявл. 13.04.2017; опубл. 27.05.2019. Бюл. № 10. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, проведення експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).

11. Патент України на винахід № 1192572, МПК, А 61К 31/197 (2006.01), А 61Р

25/28 (2006.01), С07С 53/124 (2006.01), С07С 229/06 (2006.01). Застосування похідного 4-амінобутанової кислоти як антиамнестичного засобу / М. Ю. Голік, О. Я. Міщенко, І. С. Гриценко, А. М. Комісаренко, Н. Ю. Палагіна, М. В. Міщенко; заявник і патентовласник НФаУ. № а 2017 03855; заявл. 19.04.2017; опубл. 10.07.2019. Бюл. № 13. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, проведення експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).

12. Палагіна Н. Ю. Актуальность поиска новых ноотропных средств среди производных 4-аминобутановой кислоты. *Научная дискуссия: актуальные вопросы, достижения и инновации в медицине*: мат. XIV межд. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов, г. Душанбе, 19 апреля 2019 г. С. 376.

13. Мищенко О. Я., Палагіна Н. Ю. Новые производные 4-аминобутановой кислоты – перспективные ноотропные средства. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації*: мат. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22-23 жовтня, 2019 р. / редкол.: А. А. Котвіцька та ін. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 292.

14. Міщенко О. Я., Палагіна Н. Ю., Лар'яновська Ю. Б. Оцінка структурно-функціонального стану мозочка щурів в умовах ішемії мозку. *Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів*: тези V Міжн. наук.-практ. конф., (м. Харків, 11-12 березня, 2021 року) –Х.: НФаУ, 2021. С. 572.

15. Palagina N., Mishchenko O. Cerebroprotective activity of a new derivative of 4-aminobutanoic acid on the model of experimental ischemia in rats. *Topical issues of practice and science: abstracts of XXVI International Scientific and Practical Conference, London, Great Britain. May 18–21. 2021. P. 512-513.*

16. Міщенко О. Я., Палагіна Н. Ю. Вивчення впливу сполуки-лідера за антиамнестичною активністю серед нових похідних 4-амінобутанової кислоти на поведінкові реакції щурів з моделлю закритої черепно-мозкової травми. *Фармакоекономіка в Україні: стан і перспективи розвитку*: мат. XIII наук.-практ. INTERNET- конференції, м. Харків, 21 травня, 2021 р. / редкол.: А. А. Котвіцька та ін. Х.: Вид-во НФаУ, 2021. С. 57.

17. Міщенко О. Я., Палагіна Н. Ю. Вплив нової сполуки 4-(бензил(метил)аміно)бутанової кислоти на тривожність, депресивність, м'язовий тонус та координацію рухів тварин. *Experimental and theoretical research in modern science*: мат. III Межд. науч.-практ. конф. г. Кишинев, Молдова. 26-28 июля, 2021 г. С. 183-187.

18. Палагіна Н. Ю., Міщенко О. Я. Інноваційні перспективи впровадження у медичну практику 4-(бензил(метил)аміно)бутанової кислоти як ноотропного засобу з антигіпоксичною активністю: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України. *Випуск з проблеми «Фармація»*. 2021. № 161. Київ, 2021. 3 с.