

*На правах рукописи*

**Литвинова Светлана Александровна**

**РАЗРАБОТКА ОРИГИНАЛЬНЫХ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ  
СРЕДСТВ, СОЧЕТАЮЩИХ ПРОТИВОСУДОРОЖНЫЕ СВОЙСТВА С  
НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫМ, ПРОКОГНИТИВНЫМ И  
АНКСИОЛИТИЧЕСКИМ ЭФФЕКТАМИ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

**Научный консультант:**

**Воронина Татьяна Александровна** - доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Яснецов Виктор Владимирович** - доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии, заместитель заведующего отделом космической радиобиологии и фармакологии ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук

**Кирова Юлия Игоревна** - доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела общей патологии, лаборатории общей патологии нервной системы ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

**Лебедева Анна Валерьяновна** - доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:**

ФГАОУ ВО «Белгородский национальный исследовательский университет»

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г. в \_\_ часов на заседании диссертационного совета 24.1.183.01, созданного на базе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» по адресу: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ученой части ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» по адресу: 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8 и на сайте [ww.academpharm.ru](http://ww.academpharm.ru)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук,  
профессор

Вальдман Елена Артуровна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Эпилепсия является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний нервной системы и по данным противоэпилептической лиги около 65 - 67 млн. больных в мире страдает этой болезнью (Карлов В.А. // Руководство для врачей. М.: «Медицина». 2010. С. 720; WHO, 2019). В Российской Федерации распространенность эпилепсии среди взрослого населения превышает 3 случая на 1000 обследованных (Гусев Е.И. // М.: «Буки-Веди». 2015. С. 520). 2/3 больных эпилепсией дебютируют в детском возрасте, и болеют всю жизнь и по оценке разных авторов в России инвалидами становятся от 20 до 50% больных (Гузева В.И. и др. // Ж. неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2015. №10. С.51-55; Авакян Г.Н. и др.// СПб НИПНИ им. В.М. Бехтерева, 2010. С. 960).

Эпилепсия, независимо от этиологии (наследственная или приобретенная), часто сопровождается когнитивными и психическими расстройствами (Leite J.P. et al. // *Epilepsy Research*. 2002. V.50. P. 93-103; Бадалян О.Л., Бурд С.Г., и др. // *Consilium Medicum*. 2021. 23 (2): 154-160). Развитие коморбидных психических и когнитивных нарушений у больных эпилепсией зависит от многих причин, в том числе от формы эпилепсии, локализации эпилептического очага, частоты приступов, дебюта заболевания, (Воронкова К.В., Петрухин А.С. // Эпилепсия и пароксизм. состояния. 2015. №2 (17). С. 2-7; Гузева В.И. // М: МИА. 2007. С. 568; Карлов В.А. Власов П.Н, Жидкова И.А. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2015. №7. С. 36-40; Avedisova A.S., Lebedeva A.V., et al. // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2020. Т. 50. № 1. P. 1-7), используемого противоэпилептического препарата (ПЭП) и продолжительности его применения (Kang, H. Eun, S. et al. // *Epilepsia*. 2007. №48. P. 1716-1723). Когнитивные расстройства с нарушением интеллектуально-мнестических функций встречаются у 30–40% с эпилепсией (Карлов В.А. // Руководство для врачей. М.: «Медицина». 2010. С. 720; Кириченко А.Г. // Проблемы экологии и медицины. 2012. Т. 16 (1-2). С. 34-37; Помников В.Г., Л.А. Крицка, Н.Г. Магомедова Н.Г. // Ж. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017. № 2. С. 95-99). Среди психических нарушений у больных эпилепсией наиболее часто встречаются депрессия (30-55%) и тревожные состояния (10-25%). У многих больных депрессия вызывается длительным приемом ПЭП. Эпилептические приступы сопровождаются нарушением ионного обмена, дефицитом АТФ и дисбалансом нейротрансмиттерных и транскрипционных путей, что приводит к эпилептизации мозга и появлению новых детерминантных и доминантных очагов эпилептической активности (Trojnar M.K. et al. // *Polish J. of pharmacol*. 2002. Vol. 54 (6). P. 557-566; Rabiller, G., et al. // *Inter. J. of mol. sci*. 2015. Vol. 16 (10). P. 25605-25640).

Одним из ключевых факторов увеличения доли больных эпилепсией среди впервые диагностированных пациентов старше 50 лет являются сосудистые заболевания и травмы

мозга (Гехт А.Б. // Ж. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2006. № 1. С. 3-7). Каждый год за счет постинсультных и посттравматических осложнений число больных эпилепсией увеличивается на 4 млн (WHO, 2019). При этом высокая доля развития судорожных приступов после перенесенного инсульта выявляется у детей (Chadehumbe, M. A. et al. // J. of child neurology. 2009. Vol. 24 (1). P. 9-12). С другой стороны, эпилепсия является фактором риска развития повторного нарушения мозгового кровообращения (Benbir, G. // Acta Neurol Scand. 2006. V. 114. № 1. P. 8-12; Rabiller, G. et al. // Inter. J. of mol. sci. 2015. Vol. 16 (10). P. 25605-25640).

Для лечения эпилепсии применяется более 30 ПЭП, среди которых препаратами первой линии являются производные вальпроевой кислоты, карбамазепин, леветирацетам, габапентин, топирамат, ламотриджин, лакосамид. Однако многие из ПЭП обладают серьезными побочными эффектами, в том числе эмбриоксическим и канцерогенным потенциалом (клобазам, ламотриджин, фенитоин, топирамат и др.). По международным оценкам контроль за приступами возможен только у 61–71% пациентов с эпилепсией (Маслова Н.Н., Скоробогатова В.А. // Эпилепсия и пароксизм. состояния. 2020. Т.12 (1). С. 74-81), в то время как в РФ только у 20-40% пациентов (Гусев Е.И., Авакян Г.Н., Никифоров А. С. // Москва: ГЭОТАР-Медиа. 2014. С. 160). Многие из применяемых ПЭП (бромиды, бензодиазепиновые производные, барбитураты, топирамат, прегабалин, вальпроаты) вызывают когнитивные нарушения (Rizzo M., Eslinger P.J. // Philadelphia: Saunders. 2004. P. 1168; Trimble M.R. // Guildford. 2002. P. 199). Доказанный депрессогенный эффект имеют фенобарбитал, топирамат, вигабатрин, тиагабин и леветирацетам.

Необходимость создание ПЭП с нейропротективной активностью продиктована сходством патогенеза эпилепсии и ишемии, в частности, участием в патогенезе оксидантного стресса, глутаматной нейротоксичности, внутриклеточного накопления кальция, увеличением провоспалительных цитокинов. Инсульт вызывает изменения пластичности аксонов и дендритов и перестройку нейрональных связей, что в результате, может стойко модифицировать образование и распространение биоритмов мозга в течение нескольких недель после инсульта (Brown C.E., et al. // J. of Neurosci. 2007. Vol. 27 (15). P. 4101-4109; 123. Carmichael S.T. // Annals of Neurology. 2006. Vol. 59 (5). P. 735-742; Rabiller G., et al. // Inter. J. of mol. sci. 2015. Vol. 16 (10). P. 25605-25640) и привести к формированию эпилептической системы или ее трансформации в более рефрактерную. Возникает необходимость создания ПЭП нового поколения, имеющих преимущества перед известными ПЭП и сочетающих противосудорожную активность с другими эффектами: нейропротекторным, антидепрессивным, аксиолитическим и ноотропным, что позволит не только устранять симптоматические судорожные проявления, но и остановить прогрессирование заболевания и ослабить коморбидные нарушения.

## Степень разработанности темы исследования

В России до настоящего времени отсутствуют отечественные оригинальные ПЭП и все основные препараты закупаются за рубежом.

Ранее в НИИ фармакологи имени В.В. Закусова были синтезированы соединения с противосудорожной активностью и обладающие антидепрессивными и анксиолитическими свойствами среди производных пиридилфенил-метанонов (Глозман О.М. // Хим-фарм. журн..1987.21(9). С. 1059-1063). В продолжение этих исследований в отделе химии НИИ фармакологи имени В.В. Закусова Л.А. Жмуренко и Г.В. Мокровым (руководитель член-корр. – Т.А. Гудашева) были синтезированы, с целью поиска веществ с противосудорожной активностью, гетероциклические соединения: производные оксимов бензоилпиридина, дибензофурана(-нона) и производные 4-фенилпирролидона. Производные 4-фенилпирролидона являются новыми структурными аналогами известного ПЭП леветирацетама, используемого в клинике при лечении парциальных и генерализованных форм эпилепсии, и обладающего ноотропными свойствами. Поиски ПЭП в ряду пирролидонов продолжаются во всем мире, и в клиническую практику внедрены такие ПЭП, как селетрацетам и бриварацетам. Производные бензофурана также широко изучаются в мире и обладают широким спектром фармакологических эффектов, в том числе нейропротективным, цитопротекторным и антиоксидантным (Krishnasarma Pathy, J of Pharmacol & Clin Res. 2018. 5(1): JPCR.MS.ID. 555653.). Оригинальные производные оксима дибензофуранона, в том числе с коричной кислотой, согласно исследованиям, проведенным нами по программе PASS, обладают потенциальной противоишемической и мембранопротекторной активностью ( $P_a=0.65-0.95$ ).

В настоящей работе используемый метод электроэнцефалографии (ЭЭГ) является незаменимым методом в диагностике эпилепсии и ЭЭГ-коррелятов приступов. В лаборатории психофармакологии накоплен достаточный научный материал по выявлению структурных «мишеней» противосудорожной активности известных ПЭП, например, таких как бепродон и лакосамид и др. (Воронина Т.А. и др. Эпилепсия и пароксизм. состояния. 2015. Т.7 (1). С. 8-19; Литвинова С.А. и др. // Эпилепсия и пароксизм. состояния. 2019. Т. 11 (1). С. 37-46).

**Целью исследования** явилась разработка препаратов нового поколения для лечения эпилепсии, сочетающих противосудорожное, нейропротективное и нейропсихотропное действие.

### Задачи исследования

1. Изучить спектр противосудорожных эффектов производных оксимов бензоилпиридина, дибензофуранона и производных фенилпирролидона в базисных тестах оценки судорожных состояний, и исследовать побочные эффекты и острую токсичность соединений. Выявить соединения лидеры и их преимущества перед противозепилептическими препаратами первой линии.

2. Изучить эффекты соединения-лидера из ряда оксимов бензоилпиридина (ГИЖ-298) на эпилептическую (Эпи) активность мозга на разных этапах формирования эпилептической системы и его влияние на эпилептический статус в ЭЭГ-исследованиях в сравнении с вальпроевой кислотой. Исследовать нейропсихотропные эффекты соединения ГИЖ-298.

3. Изучить эффекты соединения-лидера из ряда фенилпирролидона (ГИЖ-290) на Эпи активность мозга на разных этапах формирования эпилептической системы и выявить особенности спектра его противоэпилептических и нейропсихотропных эффектов в сравнении с леветирацетамом.

4. Изучить эффекты соединений-лидеров из ряда оксимов дибензофуранона (ГИЖ-272, ГИЖ-332) на Эпи активность мозга на разных этапах формирования эпилептической системы и изучить их нейропсихотропные эффекты.

5. Изучить эффекты производных оксимов дибензофуранона на моделях острой гипоксии, глобальной церебральной ишемии и посттравматической гематомы мозга крыс.

6. Исследовать динамику постишемической пароксизмальной активности и спектральных изменений ЭЭГ в структурах мозга крыс при ишемии на разных сроках постишемического состояния. Оценить влияние соединения-лидера ГИЖ-272 на пароксизмальную активность мозга и спектр мощности ЭЭГ крыс с ишемией мозга.

7. Изучить в ЭЭГ исследованиях механизм реализации противоэпилептической активности соединений лидеров ГИЖ-298, ГИЖ-290 и ГИЖ-272 и ГИЖ-332 и выявить мишени (структуры мозга) действия этих веществ.

8. Изучить особенности нейротрансмиттерных, нейрорецепторных и транскрипционных (MAP-киназа) нарушений, возникающих при судорожных состояниях, и выявить компоненты нейрохимического механизма реализации эффектов лидерных соединений.

### **Научная новизна**

Выявлены оригинальные соединения среди производных фенилпирролидона, оксимов бензоилпиридина и дибензофуранона, сочетающие высокую противосудорожную активность с нейропротективными и нейропсихотропными свойствами и имеющие преимущества перед известными ПЭП первой линии.

Среди производных бензоилпиридина выявлено соединение-лидер ГИЖ-298 (оксалат О-2-морфолинэтилоксим 4-бензоилпиридина), обладающее способностью в широком диапазоне доз устранять тонико-клонические судорожные реакции, вызванные максимальным электрошоком (МЭШ), и препятствовать развитию тонической экстензии у крыс с генетически детерминированной эпилепсией (линия крыс Крушинского-Молодкиной). Выявлены особенности противосудорожного действия ГИЖ-298 в хронической фокальной модели эпилепсии. Установлено, что ГИЖ-298 уменьшает число и длительность судорожных разрядов во всех структурах мозга как на 1, так и на 2 стадии

формирования Эпи системы. По активности, выраженности эффекта и скорости его наступления ГИЖ-298 превосходит вальпроевую кислоту. Выявлена способность ГИЖ-298 (40 и 60 мг/кг) с преимуществом перед вальпроевой кислотой (200 мг/кг) устранять моторные и ЭЭГ-проявления развернутого эпилептического статуса, вызванного нейротоксином гомоцистеином тиолактона, и защищать от гибели 100% крыс. Выявлены анксиолитические свойства ГИЖ-298 и отсутствие седативных реакций, характерных для вальпроевой кислоты. Установлено, что структурными мишенями противосудорожного действия для ГИЖ-298 является контрлатеральная кора, гиппокамп и гипоталамус.

Среди производных 4-фенилпирролидона выявлено соединение-лидер ГИЖ-290 (2,6-диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты) и установлены его преимущества перед леветирацетамом. Показано, что ГИЖ-290 оказывает противосудорожный эффект в тестах антагонизма с пилокарпином, литий-пилокарпином и коразолом в диапазоне доз 2,5–10 мг/кг, а леветирацетам (600 мг/кг) эффективен только в тестах антагонизма с пилокарпином и литий-пилокарпином. Особенностью противосудорожного действия ГИЖ-290 в хронической фокальной модели эпилепсии является то, что соединение уменьшает число Эпи-разрядов и их длительность в гиппокампе у крыс с развитой Эпи системой (на 2 стадии), как и препарат сравнения леветирацетам. Установлены ноотропные свойства ГИЖ-290: соединение ускоряет обучение животных и облегчает воспроизведение памятного следа. Установлено, что структурной мишенью противосудорожного действия для ГИЖ-290 является гиппокамп.

В ряду производных дибензофуранона выявлены соединения-лидеры ГИЖ-332 (О-(2-хлорбензоил) оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[b,d]фуран-1(2H)-она) и ГИЖ-272 (О-(4-циннамоил) оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[b,d]фуран-1(2H)-она). Показано, что ГИЖ-332 (5 - 20 мг/кг) оказывает противосудорожный эффект в тестах антагонизма с МЭШ, а на фокальной кобальтовой хронической модели эпилепсии устраняет ЭпА в корковых структурах мозга крыс преимущественно на 2 стадии развития Эпи системы. Установлено, что ГИЖ-272 сочетает противосудорожные и нейропротективные свойства. На моделях глобальной ишемии и посттравматической гематомы (геморрагического инсульта) ГИЖ-272 (10 мг/кг, курс 7 дней) увеличивает количество выживших крыс с церебральной патологией (на 33-35%), ослабляет неврологические и моторные нарушения и восстанавливает когнитивные функции. Показано, что ГИЖ-272 увеличивает в несколько раз количество выживших нейронов коры больших полушарий и гиппокампа (в поле СА3 и зубчатой извилине) и устраняет дезорганизацию нейрональных слоев коры крыс с ишемией мозга. На модели фокальной кобальт-индуцированной эпилепсии ГИЖ-272 оказывает влияние на ЭпА преимущественно на 1 стадии развития Эпи системы. Установлено, что структурными мишенями действия для ГИЖ-272 является гипоталамус и гиппокамп, а для ГИЖ-332 - кора больших полушарий.

Выявлены особенности развития пароксизмальной активности и спектральные изменения в постишемический период на модели глобальной ишемии мозга крыс. Установлено появление доминантных очагов ЭПА в зависимости от времени постинсультного периода: на ранних сроках ишемии лидирующей структурой является кора, а на поздних – гипоталамус. Охарактеризованы спектральные нарушения биоритмов мозга в динамике ишемического инсульта и выявлена взаимосвязь между дельта-активностью и выживанием.

Установлено, что мишени действия соединения ГИЖ-272 на модели ишемии совпадают с мишенями, выявленными на модели хронической очаговой эпилепсии. Показано, что ГИЖ-272 устраняет раннюю постишемическую пароксизмальную активность на протяжении 7 суток ишемии во всех исследуемых структурах мозга с наибольшей выраженностью эффекта в гипоталамусе и гиппокампе, и не влияет на появление ее в оставленный период ишемии (28 сутки).

Методом радиолигандного анализа *ex vivo* определена вовлеченность ГАМКВ-рецепторов в механизм противосудорожного действия ГИЖ-290, ГАМКА-рецепторов в противосудорожный эффект леветирацетама и D2-рецепторов в противосудорожный эффект ГИЖ-298.

Установлена epileptогенная роль чрезмерной функциональной активности сигнального MAP-зависимого киназного пути (ERK1/2 киназы) в стриатуме и снижение плотности D2 рецепторов в той же структуре в реализации судорог, вызванных МЭШ. Установлены компоненты механизма реализации противосудорожного действия ГИЖ-298 основанные на способности снижать чрезмерно-активированную функциональную активность дофаминергической системы и активность ERK1/2 киназ, увеличивать плотность D2-рецепторов в стриатуме и увеличивать уровни тормозных аминокислот (ГАМК, таурин, глицин) в гипоталамусе.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные результаты обосновывают целесообразность дальнейшего расширенного преclinical изучения соединений ГИЖ-290, ГИЖ-298 и ГИЖ-272 в качестве потенциальных средств лечения эпилепсии и пароксизмальных состояний.

Установленные особенности спектра противосудорожной активности лидерных соединений позволяют прогнозировать эффективность ГИЖ-298 в качестве средства лечения очаговой (фокальной) эпилепсии, эпилептического статуса, в том числе рефрактерного; ГИЖ-290 - в качестве средства лечения парциальных судорог, ювенильной миоклонической эпилепсии с нарушением когнитивных функций; ГИЖ-272 - для лечения постинсультной эпилепсии, посттравматической эпилепсии, постинсультных и постсудорожных когнитивных нарушений. ГИЖ-272 сочетает противосудорожные и нейропротективные свойства и поэтому может быть использован



не только для устранения судорожной симптоматики, но и для замедления прогрессирования заболевания.

Определение структурных мишеней мозга, на которые оказывают действие известные ПЭП и новые соединения позволяет прогнозировать эффективность препаратов и индивидуально подойти к лечению больных в зависимости от выявленного у них детерминантного очага Эпи активности.

Разработанная методология фармакологического скрининга для поиска соединений, сочетающих высокую противосудорожную активность с ноотропным, противогипоксическим, нейропротективным и психотропными эффектами может быть использована при поиске новых препаратов.

### **Методология и методы исследования**

Скрининг противосудорожных эффектов новых соединений проводили на беспородных мышах-самцах с использованием тестов антагонизма с максимальным электрошоком и пентилентетразолом. Выявление соединений лидеров осуществляли по выраженности противосудорожных эффектов, острой токсичности и терапевтической широте. Особенности противосудорожного спектра лидерных соединений изучали на моделях хронической эпилепсии, эпилептического статуса и в модели генетически детерминированной эпилепсии. Эксперименты проводили на беспородных крысах-самцах с оценкой ЭЭГ изменений пароксизмальной активности в таких структурах мозга, как правая и левая кора (сенсомоторная зона), гипоталамус и гиппокамп. С помощью нейротоксина гомоцистеина тиолактона вызывали развитие непрекращающегося эпилептического статуса у крыс с кобальт-индуцированным эпилептическим очагом с развитой, стабильной эпилептической системой. Пилокарпиновую модель эпилепсии создавали с использованием беспородных мышей и крыс самцов, а литий-пилокарпиновую модель эпилепсии - на крысах самцах линии Вистар. В качестве тест-системы генетически детерминированной аудиогенной эпилепсии использовали половозрелых крыс-самцов инбредной линии Крушинского-Молодкиной со 100% признаком эпилептиформной активности. Регистрацию биопотенциалов мозга осуществляли на 21-канальном аппаратно-программном комплексе для топографического картирования электрической активности мозга, нейрографе «Нейросенсор-Нейро-КМ» (СТАТОКИН, Россия) с использованием программы BRAINSYS для анализа пароксизмальной активности.

В исследовании компонентов механизма действия лидерных соединений использовали стандартные молекулярно-биологические методы: вестерн-блот анализ, нейрорецепторный (радиолигандный метод) и нейромедиаторный (ВЭЖХ/ЭД) анализ. Оценку активности ERK1/2 киназ и синапсина I с помощью вестерн-блот анализа проводили как в культуре клеток, так и в стриатуме мышей.

Для разработки средств лечения постинсультной эпилепсии создавали модели церебральных нарушений по ишемическому (билатеральная перевязка сонных артерий) и геморрагическому типу (посттравматическая гематома). Для установления противоишемического и нейропротективного эффектов лидерных соединений из ряда оксимов дибензофурана оценивали показатели выживаемости и морфогистологического контроля, и, с помощью стандартных поведенческих методик, выраженность неврологического, когнитивного и моторного дефицитов. На отрезках ЭЭГ записей оценивали появление постишемических пароксизмальных и спектральных изменений. Оценку возможных нейропсихотропных эффектов соединений проводили в батарее поведенческих тестов по выявлению анксиолитической (приподнятый крестообразный лабиринт, ПКЛ), антидепрессивной (вынужденное плавание по Порсолту и подвешивание за хвост) и ноотропной (Y-лабиринт, лабиринт Морриса) активностей у беспородных мышей-самцов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Изучены оригинальные соединения в рядах оксимов 3- и 4-бензоилпиридина (ГИЖ-301, ГИЖ-292, ГИЖ-311, ГИЖ-277, ГИЖ-298, ГИЖ-162, ГИЖ-323), дибензофурана(-нона) (ГИЖ-272, ГИЖ-276, ГИЖ-328, ГИЖ-338, ГИЖ-332, ГИЖ-327, ГИЖ-310, ГИЖ-310А и ГИЖ-333) и производных 4-фенилпирролидона (ГИЖ-286, ГИЖ-290, ГИЖ-295, ГИЖ-296, ГИЖ-305), среди которых выявлены соединения лидеры и установлены особенности спектров их противосудорожной активности и преимущества перед известными ПЭП.

2. Среди производных оксима 4-бензоилпиридина соединение-лидер ГИЖ-298 устраняет ЭпА на различных ЭЭГ и моторных моделях очаговой и генерализованной эпилепсии, в том числе генетически детерминированной эпилепсии, обладает уникальной способностью полностью устранять проявления эпилептического статуса, и превосходит по активности и эффективности вальпроевую кислоту. Установлены анксиолитические свойства ГИЖ-298.

3. Среди производных 4-фенилпирролидона соединение-лидер ГИЖ-290 (2-10 мг/кг) обладает противоэпилептической активностью на очаговой хронической, пилокарпиновой и литий-пилокарпиновой моделях эпилепсии, и превосходит по активности препарат сравнения леветирацетам (600 мг/кг). По ноотропному действию ГИЖ-290 превосходит по активности и эффективности леветирацетам.

4. Соединение-лидер ГИЖ-272 (оксим дибензофуранона) сочетает нейропротективные и противоишемические свойства, установленные на моделях ишемического инсульта и посттравматической гематомы, и противоэпилептические свойства, выявленные на моделях очаговой хронической эпилепсии и генетически детерминированной эпилепсии.

5. Установлены ЭЭГ маркеры нейрональной дисфункции при ишемии мозга и выявлены различия в ЭЭГ спектре дельта- и тета активности в постинсультной динамике: ранняя пароксизмальная активность появляется на 2-7 сутки ишемии, при этом лидирующей структурой по числу пароксизмальных разрядов является кора, а поздняя - с 28-х суток ишемии с доминантным очагом пароксизмальной активности в гипоталамусе; спектральные изменения дельта и тета-активности отражают тяжесть инсульта.

6. Соединение ГИЖ-272 устраняет раннюю постишемическую пароксизмальную активность во всех исследуемых структурах мозга с наибольшей выраженностью эффекта в гипоталамусе и гиппокампе и восстанавливает спектральные характеристики ЭЭГ крыс после ишемии и значительно превосходит леветирацетам.

7. ГИЖ-272 сочетает противосудорожные, нейропротективные, противоишемические и противогипоксические свойства и в связи с этим может быть использован не только для устранения судорожной симптоматики, но и для замедления прогрессирования эпилепсии, и в лечении постинсультной эпилепсии.

8. Структурными мишенями действия для ГИЖ-290 и леветирацетама является гиппокамп, для ГИЖ-272 - гиппокамп и гипоталамус (что совпадает с ЭЭГ мишенями, выявленными на модели глобальной ишемии), для ГИЖ-298 – корковые структуры, гипоталамус и гиппокамп, а для вальпроевой кислоты – ипсилатеральная кора и гипоталамус.

9. Установлены функциональные рецепторные мишени в условиях судорог: для ГИЖ-290 - ГАМКВ-рецепторы, а для ГИЖ-298 – D2 рецепторы.

10. Установлены компоненты нейрохимического механизма противосудорожного действия ГИЖ-298, а именно восстановление нарушений функциональной активности дофаминергической системы, ERK1/2 киназ в стриатуме и тормозных аминокислот в гипоталамусе, вызванных судорогами.

### **Степень достоверности полученных результатов**

Исследование выполнено на большом экспериментальном материале с использованием адекватных методов исследования. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием современных методов математической статистики.

### **Апробация результатов**

Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на российских и международных конференциях в виде устных и стендовых докладов: Научно-практическая конференция (Санкт-Петербург, 2016); Международный форум эпилептологов стран СНГ/ЕврАзЭС «Эпилепсия и пароксизмальные состояния» (Сочи, 2015, 2016, 2017; Ростов-на-Дону, 2018; Сочи, 2019; Москва, 2020); Сеченовский Международный Биомедицинский Саммит (Москва, 2017); V съезд фармакологов России (Ярославль); 5th Annual Conference on Stroke and Neurological Disorders (Турция, 2018); 4-я

Российская конференция по медицинской химии с международным участием (Москва, 2019); VIII межрегиональная научно-практическая конференция (Москва, 2019); VII международный молодежный медицинский конгресс (Санкт-Петербург, 2019); World Brain Congress (Китай, 2019); 45th FEBS Congress (Словения, 2021); II Научная конференция молодых ученых с международным участием (Москва, 2021); VIII Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием (Нижний Новгород, 2022); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Эпилепсия и пароксизмальные состояния как междисциплинарная проблема» (Москва, 2022).

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Выявлены новые высокоэффективные соединения в трех рядах химических соединений - производных 4-фенилпирролидона, оксимов бензоилпиридина и дибензофуранона. Установлены особенности спектров их противосудорожного действия, психотропной активности и структурные мишени воздействия, что позволит индивидуально подойти к лечению больных эпилепсией, отталкиваясь не только от особенности эпилептической системы пациента, но и от воздействия препарата на структуры мозга, генерирующие Эпи активность, а также на сопутствующие коморбидные заболевания. Среди производных оксима бензоилпиридина выявлено соединение ГИЖ-298, которое обладает противэпилептической активностью на разных моделях эпилепсии, в том числе обладает уникальной способностью полностью устранять проявления эпилептического статуса и имеет преимущества перед бензодиазепинами и вальпроатами, а также обладает анксиолитическими свойствами (Патент РФ 2643091 С2). Среди производных оксима дибензофуранона выявлено соединение ГИЖ-272, оказывающее выраженное нейропротективное действие и противосудорожное действие (Патент РФ 2744758 С2): установлено корректирующее влияние ГИЖ-272 на ЭЭГ маркеры пароксизмальной активности и нейрональной дисфункции на модели глобальной ишемии. Среди производных 4-фенилпирролидона выявлено соединение ГИЖ-290, которое сочетает противэпилептическую активность, способность улучшать когнитивные функции и превосходит по активности структурный аналог леветирацетам (Патент РФ 2748419 С2). Полученные данные являются основой для расширенного преклинического изучения оригинальных соединений ГИЖ-298, ГИЖ-290 и ГИЖ-272 с целью последующего внедрения в клиническую практику для лечения различных форм эпилепсии, в том числе эпилептического статуса, у пациентов после нарушения мозгового кровообращения и травм и у пациентов с когнитивными и психоэмоциональными нарушениями, что решает важную медицинскую проблему.

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно разработаны дизайн, протоколы и схемы экспериментов, методология исследования. Основные научные результаты по теме исследования

получены лично соискателем. Совместно с научным консультантом определены цели, задачи, объем исследования. Автор самостоятельно проводила исследования с использованием моделей по изучению противоэпилептиформной, нейропротективной, противоишемической, нейропсихотропной активностей. Лично разработан метод оценки соединений, используемых для лечения постинсультной эпилепсии. Личный вклад соискателя при выполнении экспериментальных исследований, подготовки публикаций в соавторстве составил от 70 до 100%.

### **Связь исследования с планами научно-исследовательских работ**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» (регистрационные номера - АААА-А16-116042550082-6, АААА-А17-117042510371-2, АААА-А18-118021290130-8, АААА-А19-119021390084-2, 122020100281-9)

### **Сведения о публикациях по теме диссертации**

По материалам диссертации опубликовано 62 работы, в том числе 31 статья в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, из них 27 статей в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus, 10 статей в журналах, индексируемых РИНЦ, и 18 тезисов. Получены 3 патента на изобретение.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 271 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы, включающего 381 источник, из них отечественных – 83 и зарубежных – 298; более 25% составляет литература за последние 5 лет. Работа иллюстрирована 66 таблицами и 50 рисунками.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

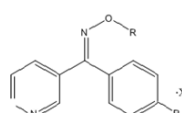
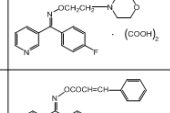

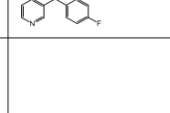
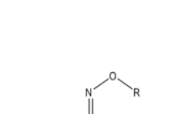
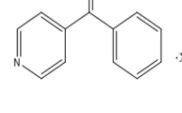
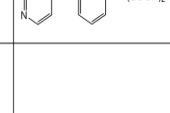
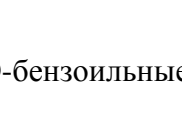
### **Материалы и методы исследования**

**Экспериментальные животные.** В исследовании использованы: 2762 самцов белых беспородных мышей массой 22–28 г, 560 самцов белых беспородных крыс массой 200–260 г и 100 самцов крыс линии Wistar массой 180–210 г; животные получены из питомника «Столбовая» и филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА (Московская область). В исследовании использовали 98 крыс линии Крушинского-Молодкиной, имеющих генетическую предрасположенность к аудиогенным судорогам, массой 240-280 г, которые были предоставлены из вивария биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Животные содержались в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденными постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29 августа 2014

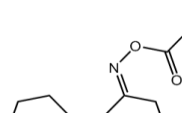
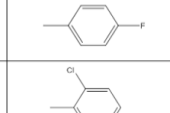
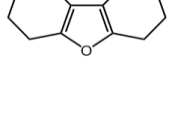
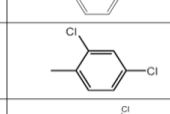

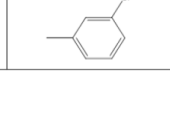


г. N 51. Организацию и проведение работы осуществляли в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами: Приказом Минздрава РФ №199н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

**Вещества.** В исследовании использованы оригинальные соединения (рисунок 1): производные О-оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидрибензо[b,d]фуран-1(2H)-она (оксимы дибензофуранона), производные О-оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов (оксимы бензоилпиридинов) и производные (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (4-фенилпирролидоны), синтезированные к.х.н. Л.А. Жмуренко и к.х.н. Г.В. Мокровым в отделе химии (рук. чл.-корр. – Т.А. Гудашева) НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. В работе также использовали: коразол (пентилентетразол) (Sigma), хлоралгидрат (Sigma), уретан, нитрит натрия, кобальт порошковый, леветирацетам субстанция (Геофарм), вальпроевая кислота (Sigma), топирамат (Sigma), карбамазепин (Sigma), бемеград (Sigma), ингибитор ERK1/2 киназ U0126 (Sigma).

#### Производные О-оксимов 3- и 4-бензоилпиридина

Шифр	R -	Шифр	R -
ГИЖ-301		ГИЖ-292	
ГИЖ-277		ГИЖ-275	
ГИЖ-311			
ГИЖ-298		ГИЖ-162	
ГИЖ-323			

#### О-бензоильные производные оксимов гексагидрибензофуранона

Шифр	R -	Шифр	R -
ГИЖ-272		ГИЖ-328	
ГИЖ-276		ГИЖ-332	
ГИЖ-310А		ГИЖ-333	
ГИЖ-327		ГИЖ-338	

## Производные (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты

	№ соединения	R <sub>1</sub>	-R <sub>2</sub>	-R <sub>3</sub>	-R <sub>4</sub>
	ГИЖ-286	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -2- CH <sub>3</sub>	4-(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -)	-H	-H
	ГИЖ-290	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -2,6- CH <sub>3</sub>	4-(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -)	-H	-H
	ГИЖ-295	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -2- O- CH <sub>3</sub>	4-(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -)	-H	-H
	ГИЖ-296	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -3- CF <sub>3</sub>	4-(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -)	-H	-H
	ГИЖ-305	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	4-(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -)	-H	-H
	Пирацетам	-H	-H	-H	-H
	Фенотропил	-H	4-(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -)	-H	-H
	Леветипрацетам	-H	-H	(S)* -H	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>
Примечание: (S)* - энантиомер.					

Рисунок 1 - Структуры изученных соединений

**Методы исследования.** Изучение эффектов соединений проводили согласно методическим рекомендациям, изложенным в «Руководстве по доклиническому изучению лекарственных средств» под общей редакцией А.Н. Миронова М.: Гриф и К. 2012 (Часть 1. Главы 14, 16, 17, 24, 28).

*Тест максимального электрошока (МЭШ)* проводили на мышах с использованием прибора Rodent shocker Type 221 (Harvard apparatus GmbH, Германия). Использовали следующую шкалу выраженности судорог в баллах: 1 - клонические подергивания, 2 - клонические судороги с потерей рефлекса переворачивания, 3-тоническая экстензия 4х конечностей, 4-гибель. *Тест антагонизма с пентилентетразолом (коразолом)* проводили на мышах. *Методика парциальной (фокальной) эпилепсии, индуцированной аппликацией кобальта.* Наркотизированным крысам в структуры мозга (двигательная зона коры левого и правого полушарий, дорзальный отдел гиппокампа, латеральные ядра гипоталамуса) вживлялись хронические электроды по координатам атласа Буреша (Буреш Я., и др. // М: Мир. 1964. С. 551). Эпилептогенный очаг создавался аппликацией порошка металлического кобальта на поверхность двигательной области коры левого полушария мозга. Исследуемые вещества вводили в/б на 1й ранней (через 48 ч) и на 2й, стабильной (через 6 дней), стадиях Эпи системы после фоновой записи, которая проводилась в течение 15-30 мин. Эффект соединений регистрировали в течение 2-3 часов. Вычисляли число и продолжительность разрядов за минуту с помощью программно-аппаратного комплекса «Нейросенсор-Нейро-КМ» и записью цифровой компьютерной ЭЭГ с последующей обработкой данных с помощью программы BRAINSYS. *Пилокарпиновая модель эпилепсии и литий-пилокарпиновая модель.* Крысам самцам и мышам самцам вводили пилокарпин в дозах 380-420 мг/кг или в дозе 40 мг/кг при предварительном введении лития (127 мг/кг, в/б за 18 ч). Регистрировали развитие миоклонических/клонических реакций, развитие эпилептического статуса и гибель животных. *Бемегридовая модель эпилепсии.* У крыс с предварительно вживленными постоянными электродами в структуры мозга вводили в/б бемегрид (антагонист барбитурового сайта ГАМКА-рецепторов) в дозе 10 мг/кг. Соединения вводили через 15

минут после введения бемегида. Регистрировали появление эпилептиморфных паттернов в течение 3 часов записи ЭЭГ. *Генетическая модель аудиогенной эпилепсии, крысы Крушинского-Молодкиной (КМ)*. Использовали крыс самцов КМ со сформированной эпилептической системой в возрасте 4 месяцев, регистрировали выраженность судорог (баллы, ЛП), спровоцированных аудиогенным раздражителем. *Модель эпилептического статуса*. Провокация эпилептического статуса в группах крыс осуществлялась на 7-8-й день после аппликации кобальта с помощью нейротоксина гомоцистеина тиолактона (DL-homocysteinethiolactone, ГМЦ, Sigma) 5,5 ммоль/кг разведенного в 3,5 мл/кг физ.р-ра. Развитие Эпи статуса оценивали по появлению высокоамплитудной ЭпА в электрограммах структур мозга (ипси- и контралатеральная кора, гиппокамп и гипоталамус) и появлению моторно-поведенческих реакций (вторично-генерализованных тонико-клонических судорог), включающих фокальные подергивания, клонус передних конечностей («барабанный бой»), комплексные генерализованные реакции, заканчивающиеся боковым положением животного и гибелью. *Модель интрацеребральной посттравматической гематомы, геморрагического инсульта (ГИ)*. Осуществляли трепанацию черепа и деструкцию мозговой ткани в области внутренней капсулы интерна с последующим введением в место повреждения крови, взятой из-под языка оперируемого животного в объеме 0,02-0,03 мл (Макаренко А.Н. и др. // Ж. ВНД. 2002. Т.52 (6). С.765-768). *Моделирование ишемического повреждения (глобальной ишемии (ИИ) мозга)* осуществляли путем одновременной перевязки двух сонных артерий до места их бифуркации, отделив от нервов. *Оценка нарушений после создания ИИ и ГИ*. На моделях ИИ и ГИ в течение 14 - 21 дней оценивали гибель животных, неврологический дефицит по шкале Stroke-index McGrow в модификации И.В. Ганнушкиной (Ганнушкина, И.В. // Ж. неврологии и психиатрии. 1996. № 1. С. 14-18); моторный дефицит в тестах «Вращающегося стержня» и «Перекладины»; когнитивный дефицит в условиях Y-образного лабиринта по мотивации к исследованию новых объектов. *Мозговой кровоток* изучали на модели преходящей глобальной ишемии. *Противогипоксическое действие* оценивали в моделях острой гипоксии (нормобарической и гемической) по продолжительности жизни мышей. *ЭЭГ методы исследований пароксизмальной активности после ИИ*. Операции по вживлению долгосрочных электродов в структуры мозга крыс (в сенсомоторную зону коры левого полушария, стриатум, дорзальный отдел гиппокампа, латеральные ядра гипоталамуса) осуществляли на крысах по координатам атласа Буреша. Запись ЭЭГ проводили через неделю после вживления электродов (фоновая запись) и через 1,2,7,14,21 и 28 суток после ИИ в условиях свободного передвижения животного по экспериментальной камере (с помощью «Нейросенсор-Нейро-КМ»). Оценивалась способность веществ влиять на пароксизмальную активность мозга после ИИ и спектральные изменения. *Нейрохимический метод анализа*. Уровни моноаминов (ДА, НА, 5-ОТ) и их метаболитов (ДОФУК, ГВК, 3-МТ, 5-ОИУК)



определяли методом ВЭЖХ во фронтальной коре, стриатуме, прилежащем ядре, гипоталамусе и гиппокампе мозга крыс и мышей. Уровни нейрональных аминокислот (ГАМК, глутамат, глицин, таурин, аспартат) определяли методом ВЭЖХ/ЭД во фронтальной коре, стриатуме, прилежащем ядре, гипоталамусе и гиппокампе мозга крыс и мышей. *Радиолигандный метод анализа.* Методом радиорецепторного связывания определяли плотность ( $B_{max}$ ) ГАМКА-, ГАМКв, NMDA- и mGluII и D2 рецепторов в плазматических мембранах структур головного мозга крыс и мышей. *Иммуоблотинг.* С помощью Вестерн блот анализа в стриатуме мышей, подвергнутых судорогам, и в клетках нейробластомы человека SH-SY5Y исследовали влияние ГИЖ-298 на активность фермента ERK1/2 киназ. *Гистологический метод.* На срезах гиппокампа и коры больших полушарий (окраска гематоксилином с эозином) крыс с ишемией (7 сутки) проводили подсчёт неизмененных и гиперхромных нейронов. *Оценку безопасности и возможных побочных нейротоксических эффектов* соединений проводили при в/б введении в соответствии с ГОСТ 32296-2013 и методическими рекомендациями по изучению возможных побочных эффектов. После введения соединений у мышей регистрировали общее состояние, особенности поведения, развитие неврологического дефицита (тесты «Вращающийся стержень» и «Перекладина») и гибель.

*Статистическую обработку результатов* проводили с помощью программ Excel 2016, MS Excel Stat 2014., Statistica 10.0, GraphPadPrism 8 и Biostat. Нормальность распределения выборок проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность – дисперсий по Левену. В зависимости от нормальности распределений для сравнения двух выборок (зависимых и/или независимых) использовали t-критерий Стьюдента, парный критерий Стьюдента или приближение t-критерия Стьюдента для неравных дисперсий, критерий Манна-Уитни и знаково-ранговый критерий Вилкоксона. В случае сравнения более двух нормально распределенных выборок (зависимых или независимых) использовали дисперсионный анализ повторных измерений с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу или по Даннету. Для сравнения более 2 неправильно распределенных выборок использовали аналог однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу-Уоллиса с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Полученные результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок или медиан и нижнего и верхнего квартилей. Статистическую значимость коэффициентов регрессии и корреляции проводили с помощью t-критерия Стьюдента и доверительных интервалов. Данные измеренные в бинарных шкалах обрабатывали с помощью критерия точной вероятности Фишера с учетом множественности сравнений. Расчет ЭД<sub>50</sub>, ЛД<sub>50</sub> проводили методом пробит анализа (метод Финни). Во всех случаях результаты считали статистически значимыми при  $P \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Изучение спектра противосудорожных эффектов производных оксимов бензоилпиридина, дибензофуранона и производных 4-фенилпирролидона в тестах МЭШ и антагонизма с коразолом, их возможных побочных эффектов и острой токсичности

На основании данных, полученных с использованием базовых тестов МЭШ и антагонизма с коразолом, были выявлены соединения с высокой противосудорожной активностью: среди производных 3,4-бензоилпиридина - ГИЖ-298, среди производных дибензофурана(-она) – ГИЖ-272, ГИЖ-276 и ГИЖ-332, среди производных 4-фенилпирролидона - ГИЖ-290. Лидерные соединения имеют преимущества по активности и эффективности перед ПЭП первой линии - вальпроевой кислотой, топираматом и леветирацетамом (таблицы 1-3).

Таблица 1 – Влияние производных 3,4-бензоилпиридина на судороги, вызванные МЭШ и коразолом

Группа животных	Тест МЭШ			Тест коразоловых судорог		
	Доза, мг/кг	Баллы	% увеличение выживших мышей относительно контрольных значений	Доза, мг/кг	ЛП 1-ого приступа, с	% увеличение выживших мышей относительно контрольных значений
<b>Контроль</b>	-	3.93 ± 0.07		-	53±12	
<b>ГИЖ-301</b>	5	3.63 ± 0.18	30.5	0.5 50 100	65±29 73±23 96±18#	0 0 10
	10	3.50 ± 0.19*	43*			
	50	3.50 ± 0.19*	43*			
	100	3.25 ± 0.16**	68*			
	150	2.88 ± 0.13***	93**			
<b>Контроль</b>		3.75 ± 0.16				
<b>ГИЖ-292</b>	5	3.90 ± 0.10	0			
	20	4.00 ± 0.00	0			
<b>ГИЖ-311</b>	2,5	3.50 ± 0.19*	43*			
	5	3.63 ± 0.18	30.5			
	10	3.75 ± 0.16	18			
	50	3.75 ± 0.16	18			
	100	3.75 ± 0.16	18			
<b>Контроль</b>	-	3.90 ± 0.10		-	267±34	
<b>ГИЖ-277</b>	10	3.90 ± 0.10	0			
	30	3.90 ± 0.10	0			
	100	3.75 ± 0.16	0			
<b>ГИЖ-275</b>	5	3.50 ± 0.19	37.5	5 100	251±24 312±45	0 0
	10	3.50 ± 0.19	37.5			
	20	3.75 ± 0.16	12.5			
	100	3.75 ± 0.16	12.5			
	<b>Контроль</b>		4.00 ± 0.00			
<b>ГИЖ-298</b>	1	3.88 ± 0.13	12.5	20 50 100	180±37* 91±10* 120±8*	2.5 9 29
	5	3.75 ± 0.16	25,0			
	10	3.63 ± 0.18	37.5			
	10	3.63 ± 0.18	37.5			
	20	3.63 ± 0.18	37.5			

	40	3.50 ± 0.19*	50*			
	60	3.38 ± 0.18*	62.5*			
	80	3.00 ± 0.19**	87.5**			
	100	2.88 ± 0.13***	100**			
	150	2.75 ± 0.16***	100**			
<b>Контроль</b>		3.90 ± 0.10		-	144±25	
<b>ГИЖ-162</b>	5	3.90 ± 0.10	0	20	113±22	0
	10	3.90 ± 0.10	12.5			
	20	3.38 ± 0.18*	50*			
	40	3.00 ± 0.19**	75*			
	80	2.75 ± 0.16***	87.5**			
<b>Контроль</b>		3.63 ± 0.18				
<b>ГИЖ-323</b>	5	3.38 ± 0.18	25			
	20	3.38 ± 0.18	25			
	40	3.25 ± 0.25	25			
	60	2.75 ± 0.16***	62.5*			
<b>Контроль</b>		4.00 ± 0.00				
<b>Вальпроевая кислота</b>	160	3.90 ± 0.10	12.5			
	180	3.80 ± 0.13	20			
	200	3.50 ± 0.17*	50*			
	220	3.40 ± 0.16*	60*			
	240	3.10 ± 0.18***	80**			
<b>Топирамат</b>	20	4.00 ± 0.00	0			
	40	3.63 ± 0.18	37.5			
	60	3.50 ± 0.19*	50*			
	80	3.38 ± 0.18*	62.5*			
	100	3.38 ± 0.18*	62.5*			

Примечание: \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ , # $P \leq 0.1$  - достоверность значений от группы «МЭШ»; каждая группа содержала от 8 до 20 особей.

Таблица 2 - Влияние производных оксимов дибензофуранона на судороги, вызванные МЭШ и коразолом

Группа животных	Тест МЭШ			Тест коразоловых судорог		
	Доза, мг/кг	Баллы	% увеличение выживших мышей относительно контроля	Доза, мг/кг	ЛП 1-ого приступа, с	% увеличение выживших мышей относительно контроля
<b>Контроль</b>		4.00 ± 0.00			167±20	
<b>ГИЖ-276</b>	5	4.0 ± 0.00	0	5	244±37#	0
	10	3.83 ± 0.15	17	20	169±24	0
	20	3.43 ± 0.22	36*	40	172±33	0
	30	3.31 ± 0.19*	50*			
	40	3.11 ± 0.19*	50*			
	60	3.50 ± 0.18*	50*			
<b>Контроль</b>		4.00 ± 0.00			1080±602	
<b>ГИЖ-328</b>	40	1.88 ± 0.45*	39	10	354±186	4
	60	3.00 ± 0.22*	42*	40	1900±3007	38
				60	1127±2279	16
<b>ГИЖ-332</b>	5	2.41 ± 0.8*	48*	5	293 ± 116	0
	10	2.45 ± 0.7*	64*	20	1980±2962#	60*
	20	3.0 ± 0.35	14	40	334±141	0
	40	2.83 ± 0.2	40*			
	60	3.0 ± 0.35	14			
<b>Контроль</b>		3.50 ± 0.6			562 ± 236	

<b>ГИЖ-338</b>	40	3.20 ± 0.4	39		447 ± 138	
	60	3.30 ± 0.9	42		240 ± 26	
<b>ГИЖ-272</b>	5	3.50 ± 0.45	0	20	480 ± 467	27
	10	3.00 ± 0.18	5.5	40	1400 ± 2224#	27
	20	2.53 ± 0.32*	39*			
	40	3.50 ± 0.45	10			
	60	3.63 ± 0.18	11.5			
<b>Контроль</b>		3.77 ± 0.11			411 ± 82	
<b>ГИЖ-327</b>	5	3.83 ± 0.15	0	10	402 ± 83	16
	20	3.83 ± 0.15	0	20	586 ± 95	27
	30	3.00 ± 0.19**	66*	30	535 ± 96	16
	40	3.22 ± 0.21*	46*			
	60	3.36 ± 0.12*	43#			
<b>ГИЖ-310А</b>	5	3.75 ± 0.16	12.5	20	274 ± 44	0
	20	3.63 ± 0.18	37.5	40	511 ± 174	0
	50	3.21 ± 0.17	50#			
<b>ГИЖ-333</b>	2.5	3.70 ± 0.46	0	10	737 ± 203	0
	20	2.80 ± 0.98#	10	20	948 ± 394	16
	40	3.70 ± 0.46	0	40	560 ± 143	5
<b>Вальпроевая кислота</b>	220	3.0 ± 0.28**	60*			
	240	2.15 ± 0.23**	80*			

Примечание: \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , #  $P \leq 0.1$ - достоверность значений от группы «МЭШ»; каждая группа содержала от 8 до 19 особей.

Таблица 3 - Влияние производных 4-фенилпирролидина на судороги, вызванные МЭШ и коразолом

Группа животных	Тест МЭШ			Тест коразоловых судорог		
	Доза, мг/кг	Баллы	% увеличение выживших мышей относительно контроля	Доза, мг/кг	ЛП 1-ого приступа, с	% увеличение выживших мышей относительно контроля
<b>Контроль</b>		3.80 ± 0.09			135 ± 36	
<b>ГИЖ-286</b>	2,5	4.00 ± 0.00	0	2,5	166 ± 28	0
	5,0	4.00 ± 0.00	0	5,0	178 ± 23	0
	10	4.00 ± 0.00	0	10	137 ± 28	0
<b>ГИЖ-290</b>	0,5	4.00 ± 0.00	0	1,0	115 ± 31	27,5
	1,0	3.60 ± 0.16	20	2,5	120 ± 29	52,5*
	2,5	3.50 ± 0.17	30#	5,0	210 ± 26*	77,5*
	5,0	3.60 ± 0.16	20	10	288 ± 28*	27,5
	10	3.90 ± 0.10	0			
<b>ГИЖ-295</b>	2,5	4.00 ± 0.00	0	2,5	200 ± 29*	0
	5,0	3.67 ± 0.21	13	5,0	272 ± 44*	0
	10	4.00 ± 0.00	0	10	260 ± 35*	0
<b>ГИЖ-296</b>	2,5	3.83 ± 0.17	0	2,5	219 ± 37*	0
	5,0	4.00 ± 0.00	0	5,0	230 ± 40	0
	10	4.00 ± 0.00	0	10	170 ± 38	0
<b>ГИЖ-305</b>	2,5	4.00 ± 0.00	0	2,5	91 ± 11	0
	5,0	3.83 ± 0.17	0	5,0	182 ± 21	0
	10	4.00 ± 0.00	0	10	176 ± 13	0
<b>Леветирацетам</b>	2,5	4.00 ± 0.00	0	2,5	163 ± 32	0
	600	3.50 ± 0.19	30	600	193 ± 30*	27,5

Примечание: \*  $P \leq 0.05$ , #  $P \leq 0.1$ - достоверность значений от группы «МЭШ»; каждая группа содержала от 6 до 30 особей.

Исследование возможных побочных эффектов показало, что лидерные соединения ГИЖ-298 (0,5-100 мг/кг), ГИЖ-272 (40 – 400 мг/кг), ГИЖ-332 (40 – 400 мг/кг) и ГИЖ-290 (20-300 мг/кг) в широком диапазоне доз не вызывают: седации, возбудимости, тремора, судорожных проявлений, появления вегетативных реакций, стереотипии и груминга, изменений порогов болевой чувствительности и агрессии, развития неврологического дефицита (нарушение координации движения и мышечного тонуса) в тестах вращающегося стержня и подтягивание не перекладине. При изучении острой токсичности установлено, что наиболее благоприятным профилем безопасности среди производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридина обладает ГИЖ-298, среднесмертельная доза (ЛД<sub>50</sub>) которого составляет 310 (280–321) мг/кг, тогда как для вальпроевой кислоты этот показатель составляет 457 (380-534) мг/кг. Терапевтический индекс (ТИ=ЛД<sub>50</sub>/ЕД<sub>50</sub>) для ГИЖ-298 составляет более 19, тогда как для вальпроевой кислоты не более 3. Все производные оксимов дибензофурана(-нона) являются малотоксичными соединениями, так как в дозе 1000 мг/кг они не вызывают гибели животных и развития неврологического дефицита, а их ТИ составляет более 33. Производное 4-фенилпирролидона ГИЖ-290 является малотоксичным соединением, так как его средне летальная доза (ЛД<sub>50</sub>) составляет 691,0 мг/кг, что превышает максимально терапевтическую более чем в 60 раз, тогда как для леветирацетама (ЛД<sub>50</sub> – 1200 мг/кг) по оценкам в разных тестах этот показатель колеблется между 2 и 12 раз (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели ЭД<sub>50</sub>, ЛД<sub>50</sub> и терапевтической широты (ТИ) соединений-лидеров ГИЖ-272, ГИЖ-332, ГИЖ-290 и ГИЖ-298

Показатели на б/п самцах мышцах при в/б введении	Оксим бензоил-пиридина:	Оксимы дибензофурана:			4-фенил-пирро-лидон:	Препараты сравнения:		
	ГИЖ-298	ГИЖ-272	ГИЖ-332	ГИЖ-290	Левети-рацетам	Топирамат	Вальпро-евая кислота	
Диапазон терапевтических доз (по данным тестов МЭШ и коразоловых судорог), мг/кг	20 – 60	10 – 40	5 – 30	2,5 – 10	100 – 600	60 - 100	150 – 280	
ЭД <sub>50</sub> , мг/кг	16,4 (7,0 –33,8)					64,9 (44,2–112,1)	205,8 (190,0–227,2)	
LD <sub>50</sub> (по данным острой токсичности) мг/кг	>300	>1000	>1000	>600	>1200	>600 (данные литературы)	>400	
ТИ = ЛД <sub>50</sub> /ЭД <sub>50</sub>	>19	≈ 33	≈ 33	≈60	2-12	>9	>2	

Таким образом, соединения ГИЖ-298, ГИЖ-272, ГИЖ-332 и ГИЖ-290 характеризуются отсутствием неврологических дефицитов в широком диапазоне доз, имеют низкую токсичность и обладают большой терапевтической широтой,

превосходящей в несколько раз этот показатель для вальпроевой кислоты, леветирацетама и топирамата.

### Изучение эффектов соединения ГИЖ-298 на моделях хронической фокальной кобальт-индуцированной эпилепсии, генетически-детерминированной эпилепсии и на модели эпилептического статуса

В хронической фокальной кобальт-индуцированной модели эпилепсии ГИЖ-298 в дозе 60 мг/кг устраняет ЭЭГ паттерны Эпи активности мозга, как на начальной, так и на развернутой стабильной стадии формирования Эпи системы, снижая более, чем в 5 раз число и более, чем в 7 раз продолжительность разрядов. ЭЭГ механизм ГИЖ-298 на 1 стадии формирования Эпи системы определяется влиянием на первичные очаги ЭпА в ипсилатеральной коре (на стороне аппликации кобальта) и в гипоталамусе, а на 2 стабильной стадии развития Эпи системы - влиянием на генерирующие ЭпА вторичные- и третичные очаги в контрлатеральной коре («зеркальный» очаг), гиппокампе и гипоталамусе. Анализ степени снижения показателей ЭпА в различных структурах мозга под влиянием вальпроевой кислоты (ВК, 200 мг/кг) показал, что наиболее выраженное снижение числа (более, чем в 3 раза) и длительности разрядов наблюдалось на стороне очага - в ипсилатеральной коре и гипоталамусе как на 1, так и на 2 стадии развития Эпи системы, что и определяет структурные мишени препарата. Наиболее резистентным к действию ВК оказался очаг в контрлатеральной коре и гиппокампе (рисунок 2).

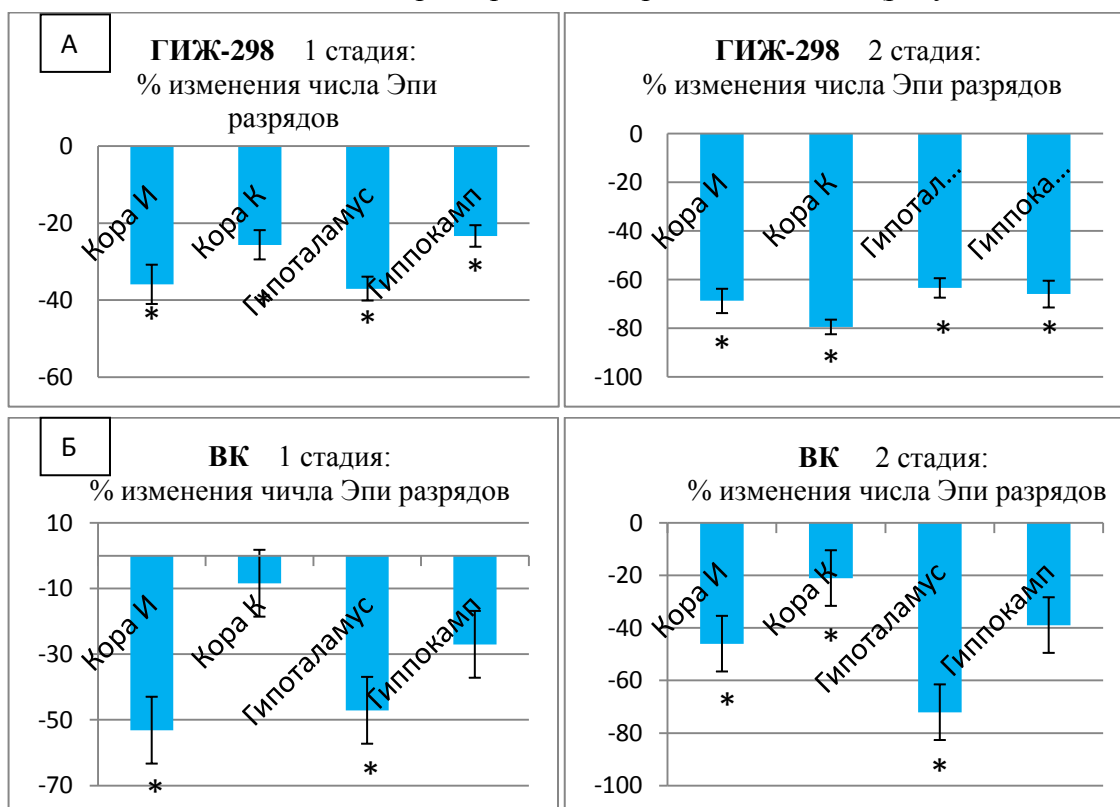


Рисунок 2 – Влияние ГИЖ-298 (60 мг/кг) (А) и вальпроевой кислоты (ВК, 200 мг/кг) (Б) на степень изменения (%) числа разрядов в различных структурах мозга у крыс с кобальт-индуцированным очагом на 1 и 2 стадиях формирования Эпи системы. Примечание: \*  $P \leq 0,05$  по сравнению с фоном, принятым за 100%; Кора И – кора ипсилатеральная, Кора К – контрлатеральная кора.

Таким образом, в модели хронической фокальной эпилепсии ГИЖ-298 (60 мг/кг) в меньшей дозе и в большей степени, чем ВК (200 мг/кг) подавляет очаги первично- и вторично генерализованной ЭПА, как в корковых, так и подкорковых структурах мозга.

Эпилептический (Эпи) статус вызывали нейротоксином гомоцистеина тиолактоном (ГМЦ), который вводили крысам с кобальт индуцированным очагом ЭПА на 7-8й день после аппликации кобальта. В условиях данной модели ГИЖ-298 (60 мг/кг) через 50 минут после введения полностью устранял ЭЭГ (число и продолжительность разрядов) и моторные проявления (вторично-генерализованные тонико-клонические судороги) Эпи статуса и защищал 100% животных от гибели (в контроле погибло 50% крыс) (рисунок 3). Защитный эффект ВК (200 мг/кг) в отношении ГМЦ-индуцированной ЭПА развивался только через 2,5-3 часа и оставались животные с моторными судорожными проявлениями (37%), а также регистрировалась гибель животных (14%) (рисунок 3).

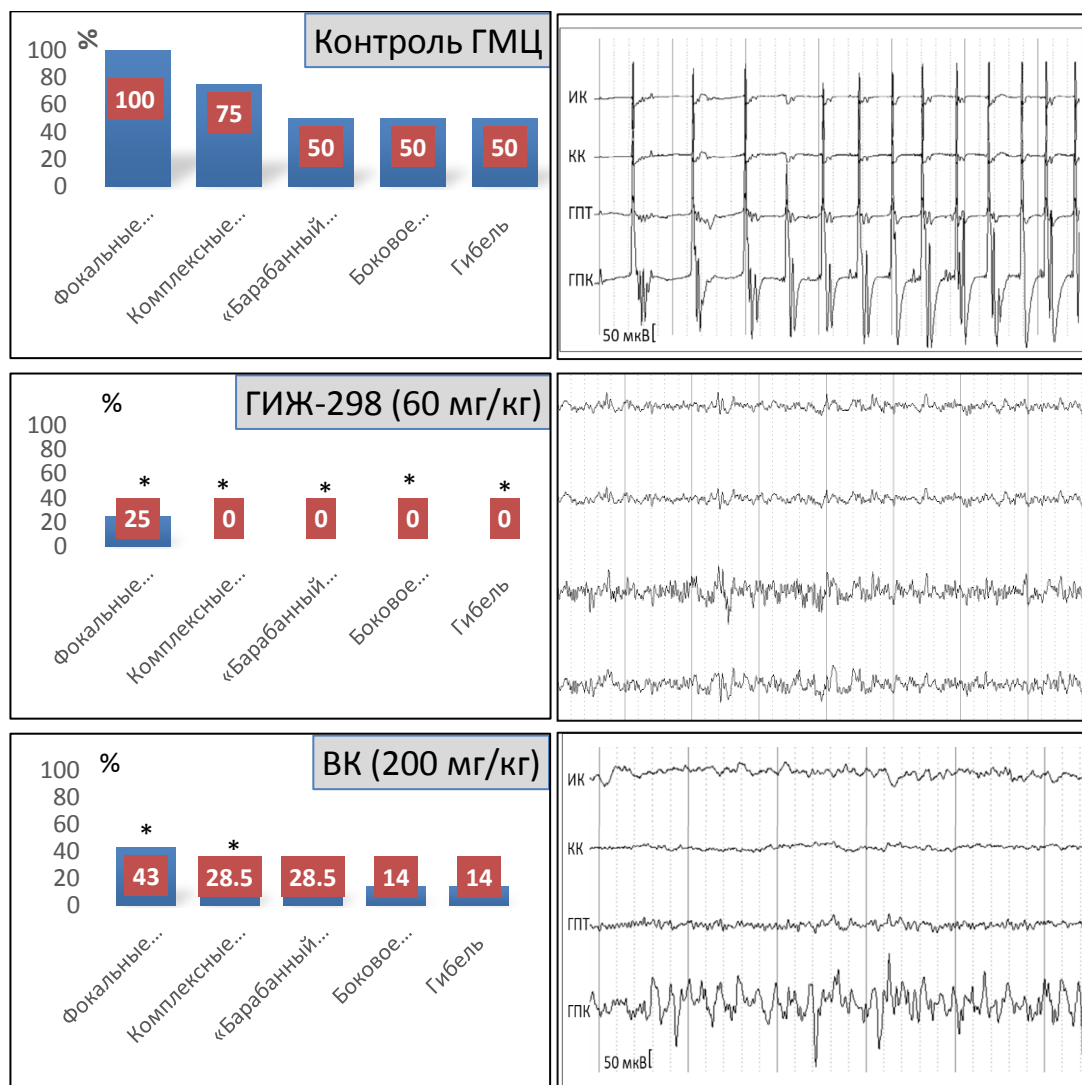


Рисунок 3 – Влияние ГИЖ-298 и вальпроевой кислоты (ВК) на моторные и ЭЭГ паттерны развернутого Эпи статуса, вызванного гомоцистеина тиолактоном (ГМЦ) у крыс с кобальт-индуцированным Эпи очагом. *Примечание: \*P≤0.05 - достоверность отличий от контрольных показателей с ГМЦ; ИК-ипсилатеральная кора, КК-контралатеральная кора, ГПТ-гипоталамус, ГПК-гиппокамп.*

На модели генетически-детерминированной эпилепсии, крыс линии Крушинского-Молодкиной, по выраженности устранения клонической и особенно тонической фазы судорог ГИЖ-298 (60 мг/кг) не уступал ВК (150 мг/кг): соединение полностью устраняло тоническую экстензию передних и задних конечностей, при этом клонический приступ развивался только у одного животного и только после второй волны двигательного возбуждения, в отличие от контроля с одноволновой реакцией (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние соединения ГИЖ-298 и вальпроевой кислоты (ВК) на аудиогенные судороги у крыс КМ

Группа животных	Выраженность судорог в баллах	Количество двигательных волн (ДВ)	% крыс с тонической экстензией конечностей
Контроль	3,73±0,27	1 (1÷1)	83 (5/6)
ГИЖ-298 (60 мг/кг)	1,05±0,14**	2 (2÷2)*	0 (0/6)
ВК (150 мг/кг)	0,95±0,18**	2 (2÷2)*	0 (0/6)

Примечание: \*\*  $P \leq 0.01$  и \*  $P \leq 0.05$  – достоверность от контроля; балл 0 – отсутствие ДВ на звук, балл 1 – ДВ, балл 2 – клонус всего тела, балл 3 – клонико-тонические судороги (на боку), балл 4 – тонические судороги с остановкой дыхания.

### Изучение психотропных эффектов соединения ГИЖ-298

Установлено, что соединение ГИЖ-298, как и ВК, сочетают противосудорожную активность и анксиолитические свойства. В тесте приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) ГИЖ-298 в дозе 40 мг/кг/в/б при 7-и дневном введении увеличивал более, чем в 2,5 раза время нахождения животных в открытых рукавах лабиринта и, в отличие от ВК (150 мг/кг/в/б), не подавлял общее количество переходов, предполагая отсутствие седативного компонента (рисунок 4).

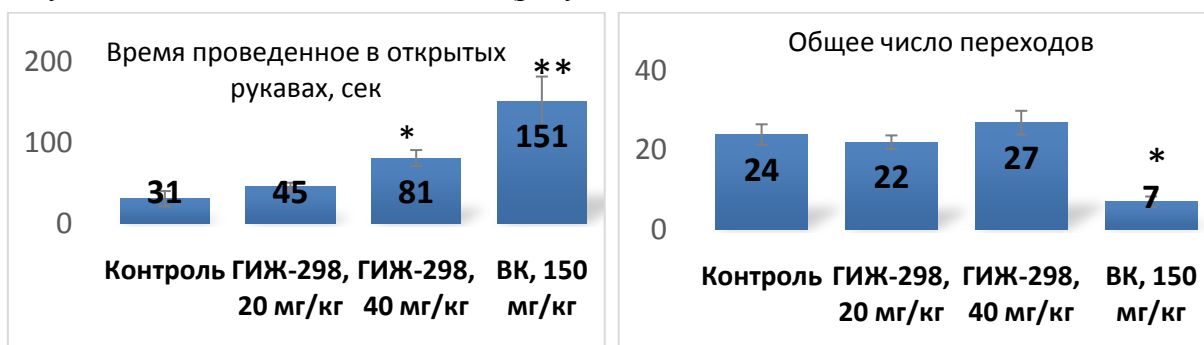


Рисунок 4 – Влияние ГИЖ-298 в сравнение с вальпроевой кислотой (ВК) на тревожность мышей в тесте ПКЛ. Примечание: \*  $P \leq 0.05$  и \*\* $P \leq 0.01$  - достоверность по сравнению с контрольной группой.

В тесте спонтанного чередования в Y-образном лабиринте ГИЖ-298 (60 мг/кг/в/б) не вызывал нарушения кратковременной рабочей памяти у мышей при однократном и курсовом введениях (14 дней), регистрируемых по числу правильного чередования рукавов, и не обладал антидепрессивной активностью в тестах вынужденного плавания по Порсолту и подвешивания за хвост.

### Компоненты механизма противосудорожного действия соединения ГИЖ-298

Выявлена эпилептогенная роль чрезмерной функциональной активации ERK1/2 киназ и синапсина I в условиях МЭШ-индуцированных судорог в стриатуме. Уровень



синапсина I, фосфорилированного по положениям Ser62/67, являющимся субстратами для ERK1/2, после МЭШ возрастал в среднем более чем в 4 раза, а уровень фосфо-ERK1/2 повышался в среднем в 2.5 раза (рисунок 5). Установлено, что одной из основных причин активности фермента является недостаточность D2 рецепторов: после МЭШ наблюдалось снижение (на 17%) плотности (*Bmax*) D2-рецепторов на мембранах стриатума. Кроме того судороги, вызванные МЭШ, сопровождались снижением количества mGluII рецепторов (-25%) на мембранах коры и увеличением NMDA рецепторов (+27%) в гиппокампе.

Противосудорожные эффекты соединения ГИЖ-298 (60 мг/кг) сопровождались увеличением на 24% количества D2-рецепторов в стриатумах мышей, перенесших МЭШ, и, аналогично эффектам ВК (200 мг/кг), снижением уровней фосфо-ERK1/2 и фосфо-синапсина I в среднем на 25% в той же структуре. Кроме того, ГИЖ-298 увеличивал на 13% количество D2-рецепторов в стриатумах интактных животных. На NMDA и mGluII рецепторы мозга мышей соединение ГИЖ-298 не оказывало влияния (рисунок 5).

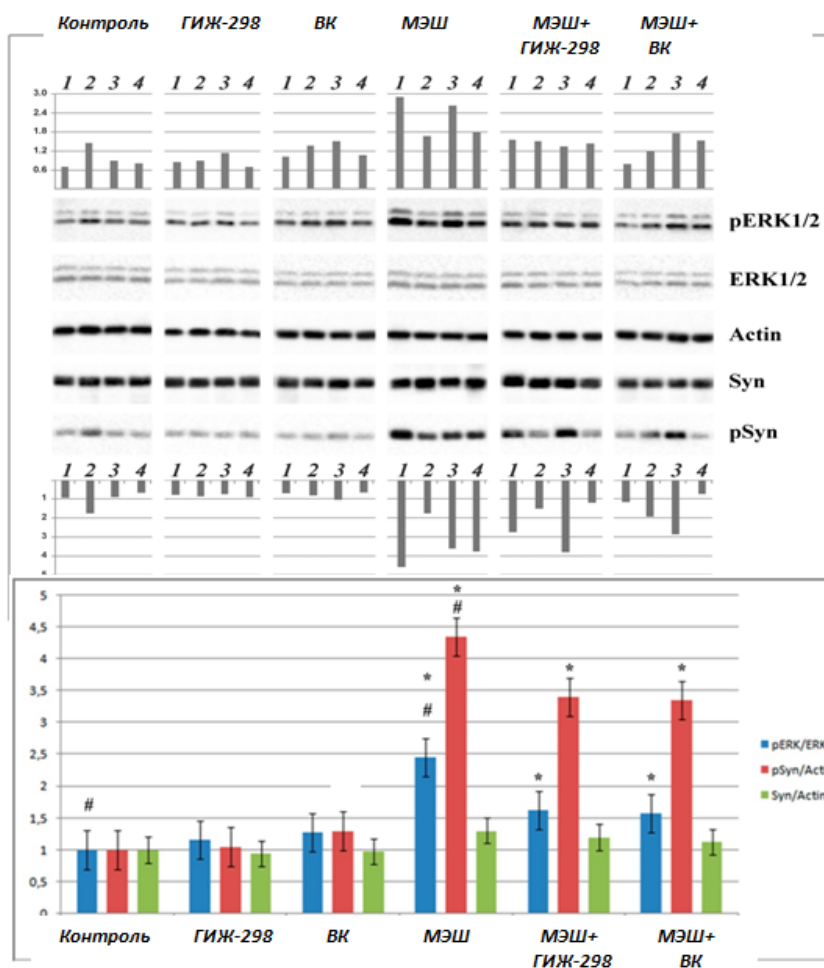


Рисунок 5 - Влияние ГИЖ-298 (60 мг/кг) и вальпроевой кислоты (200 мг/кг) на уровень фосфорилирования ERK1/2 и синапсина I в стриатуме мышей в условиях МЭШ.

Примечание: усредненные значения уровней фосфорилирования ERK1/2 и синапсина I на уровне экспериментальных групп (относительные единицы). pERK1/2 – фосфорилированная ERK1/2, ERK1/2 – общая ERK, pSyn – фосфорилированный синапсин I, Syn – общий синапсин I. Уровень фосфо-ERK1/2 нормализован по общей ERK1/2, уровень фосфо-синапсина I нормализован по актину и общему синапсину. #P ≤ 0.01; \*P ≤ 0.05.

ГИЖ-298 дозозависимо, но в меньшей степени, чем селективный ингибитор U0126, подавлял фосфорилирование ERK1/2 в клетках нейробластомы человека SH-SY5Y в концентрациях близких к терапевтическим, что свидетельствует о его прямом ингибирующем влиянии на upstream звенья ERK1/2-каскада. ВК не влияла на активность ERK1/2 киназ в культуре клеток SH-SY5Y (рисунок 6).

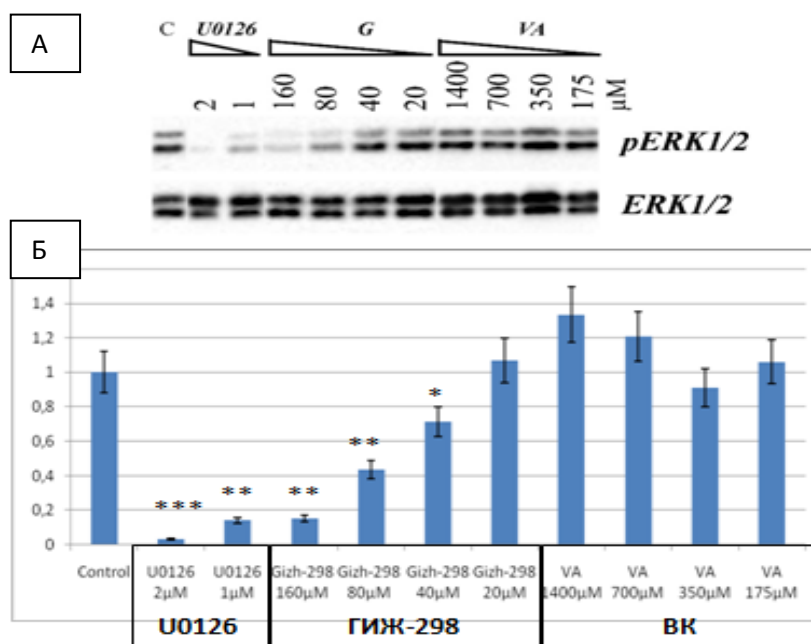


Рисунок 6 - Влияние ГИЖ-298 и вальпроевой кислоты на уровень фосфорилирования ERK1/2 в культуре клеток SH-SY5Y. Примечание: А- результат иммуноблоттинга, Б- уровень фосфо-ERK1/2, нормализованной по общей ERK1/2; G – ГИЖ-298, С – контроль (control), ВК (VA) – вальпроевая кислота, pERK1/2-фосфорилированная ERK1/2 – общая ERK;\*\*\* $P \leq 0.001$ , \*\* $P \leq 0.01$ , \* $P \leq 0.05$ .

Исследование выполнено совместно с сотрудниками лаборатории радиоизотопных методов исследования НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (зав. лаб. проф. Г.И. Ковалев) и лаборатории молекулярных механизмов биологической адаптации института Молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардт (зав. лаб. проф. М.Б. Евгеньев).

Исследование содержания катехоламинов и аминокислот в структурах мозга животных в условиях МЭШ-индуцированных судорог показало, что МЭШ вызывал значимое увеличение функциональной активности дофаминергической системы, проявляющееся в виде усиления скорости метаболизма дофамина (ДА) в стриатуме, прилежащем ядре (Пр.ядро), гипоталамусе и во фронтальной коре (Фр.кора), и снижение уровня норадреналина (НА) во Фр.коре и стриатуме. МЭШ снижал уровни содержания тормозных аминокислот в гиппокампе (таурина и глицина) и гипоталамусе (ГАМК, глицина, таурин), нарушая баланс ГАМК/глутамат. Действие ГИЖ-298 сопровождалось снижением чрезмерной активности дофаминергической системы и восстановлением уровня НА в стриатуме, восстановлением баланса ГАМК/глутамат и содержания таурина и глицина в гипоталамусе. ВК восстанавливала содержание ГАМК и соотношение ГАМК/глутамат в гипоталамусе (рисунок 7).

Исследования проведены совместно с сотрудниками лаборатории нейрохимической фармакологии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (зав. лаб. к.м.н. В.С. Кудрин).

Таким образом, по выраженности противосудорожного эффекта ГИЖ-298 не уступает ВК на модели генетической эпилепсии и превосходит ее на моделях хронической фокальной кобальт-индуцированной эпилепсии и Эпи статуса, а по активности превосходит ВК в 2 - 3 раза. Соединение ГИЖ-298, как и ВК, обладает ангиолитическими свойствами, но не вызывает седации. Компоненты механизма реализации противосудорожного действия ГИЖ-298 включают восстановление функциональной работы стриатума - влияние на D2-рецепторы, активность ERK1/2 киназ и содержание норадреналина, восстановление содержания тормозных аминокислот ГАМК, таурина и глицина в гипоталамусе.

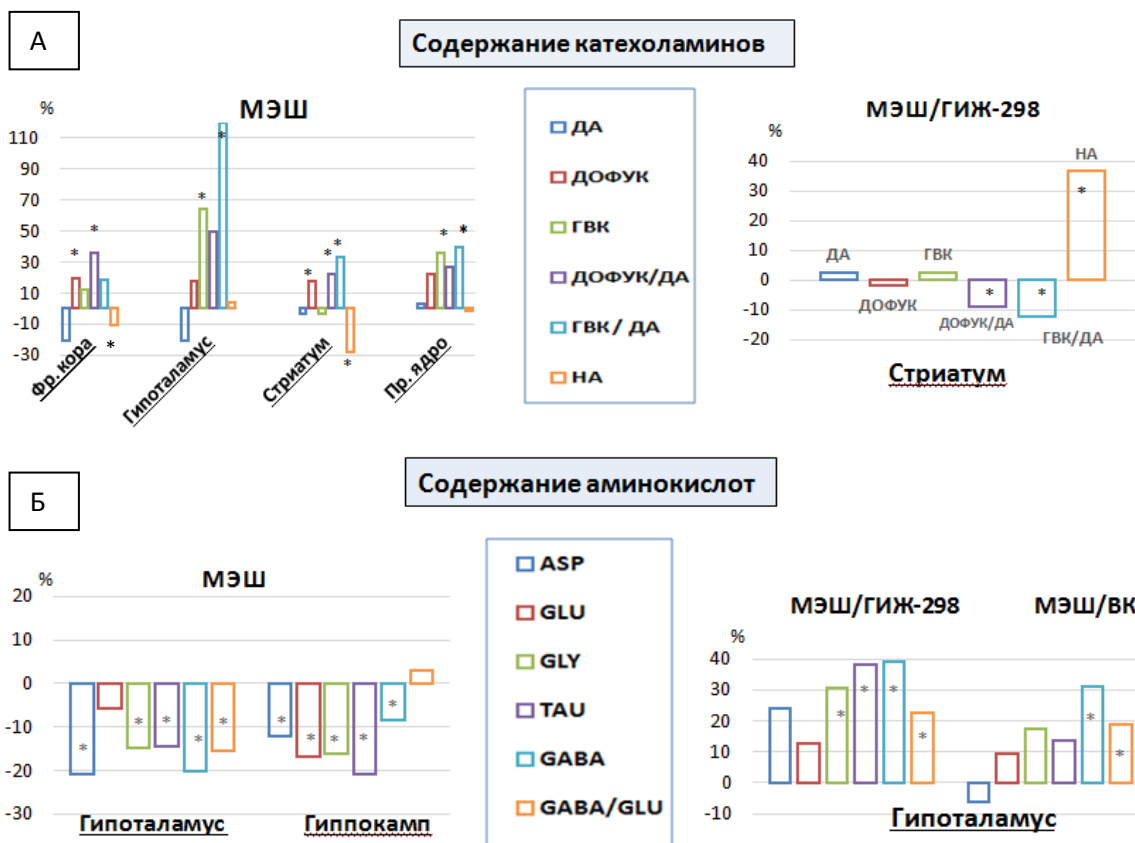


Рисунок 7 - Влияние ГИЖ-298 (60 мг/кг) и вальпроевой кислоты (ВК, 200 мг/кг) на содержание катехоламинов (А) и аминокислот (Б) в структурах мозга животных в условиях МЭШ-индуцированных судорог. *Примечание: \*  $P \leq 0,05$  - достоверность отличий от контрольных значений, принятых за 100% - контроля без МЭШ (левая часть рисунка) и контроля с МЭШ (правая часть рисунка).*

### Изучение эффектов соединения ГИЖ-290 на моделях хронической фокальной кобальт-индуцированной эпилепсии, рефрактерной пилокарпин-индуцированной эпилепсии и первично-генерализованной бемегридовой модели эпилепсии

На модели хронической фокальной эпилепсии соединение ГИЖ-290 (5 мг/кг/в/б) уменьшало число Эпи разрядов и их длительность в гиппокампе у крыс только с развитой Эпи системой (на 2й стадии). Леветирацетам в дозе 200 мг/кг устранял ЭпА во 2й стабильной стадии развития Эпи системы во всех структурах мозга, однако в дозе 500 мг/кг препарат усиливал пароксизмальную активность. Лидирующей структурой для леветирацетама, так же, как и для ГИЖ-290, является гиппокамп (рисунок 8).

Наиболее специфичной моделью для оценки противосудорожного действия ПЭП пирролидинового ряда является пилокапиновая модель эпилепсии. Соединение ГИЖ-290 в модели пилокарпиновых судорог у крыс и мышей защищало от развития генерализованного клонического припадка переходящего в продолжительный Эпи статус, как правило, заканчивающиеся гибелью животного, увеличивая количество выживших животных в течение 90 минут и через 24 часа. В условиях рефрактерной литий-пилокарпиновой модели эпилепсии соединение ГИЖ-290 в дозах 2,5, 5 и 10 мг/кг/в/б задерживало развитие генерализованных судорог (Эпи статуса) и увеличивало количество

выживших крыс через 24 часа наблюдения на 44%, 74% и 54% соответственно. Леветирацетам, сопоставимо эффектам ГИЖ-290 в дозе 5 мг/кг, защищал от развития судорог и гибели крыс в дозе 600 мг/кг. ВК сдерживал развитие судорожных реакций в первый час наблюдения, но не влиял на выживаемость крыс через 24 часа (рисунок 9).

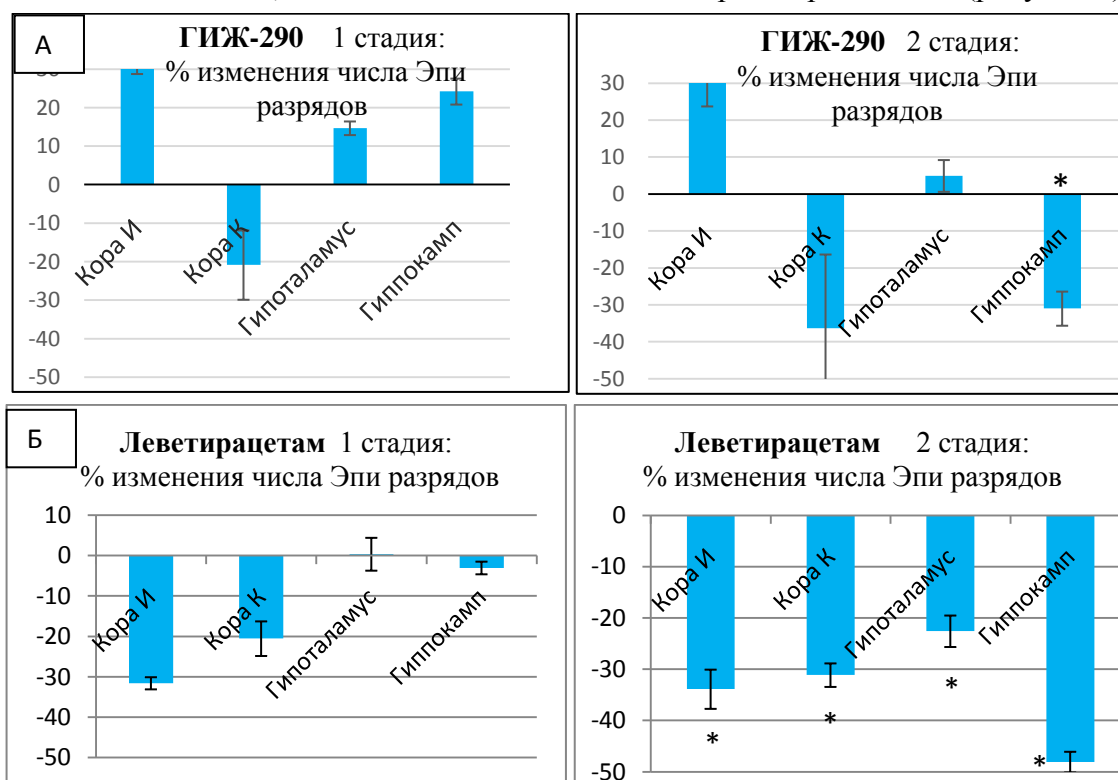


Рисунок 8 – Влияние ГИЖ-290 (5 мг/кг) (А) и леветирацетама (200 мг/кг) (Б) на степень изменения (%) числа разрядов в структурах мозга крыс с кобальт-индуцированным очагом на 1 и 2 стадиях формирования Эпи системы. *Примечание:* см. сокращения как в рис.2; \*  $P \leq 0,05$  по сравнению с фоном, принятым за 100%.

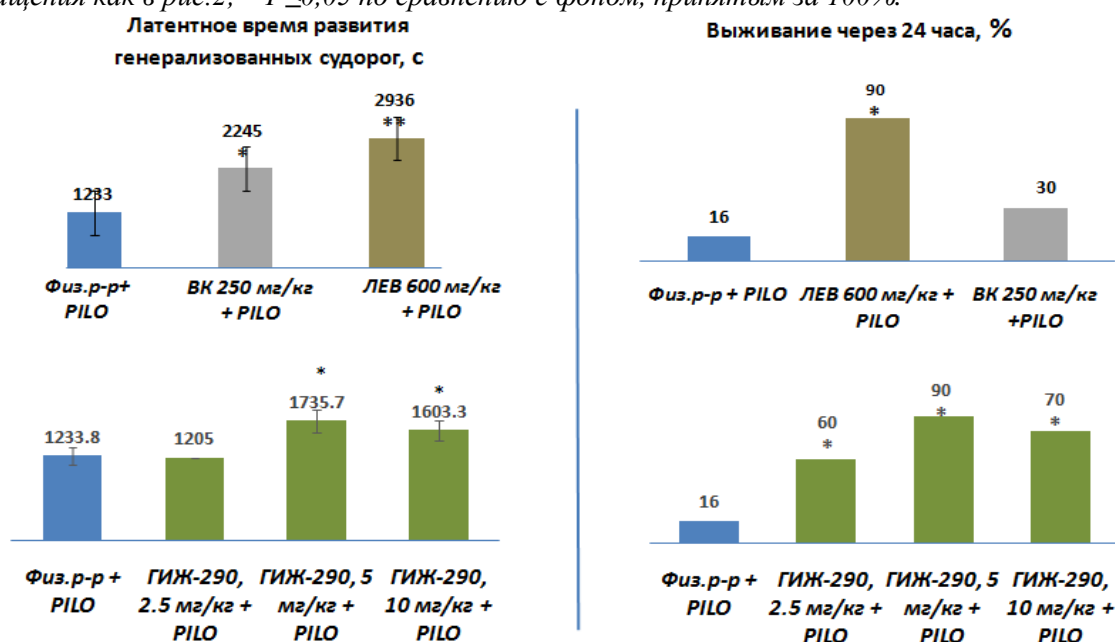


Рисунок 9 - Эффекты ГИЖ-290 (2,5-10 мг/кг), леветирацетама (600 мг/кг) и вальпроевой кислоты (ВК, 250 мг/кг) в тесте литий-пилокарпиновых судорог у крыс. *Примечание:* \*  $P \leq 0,05$  - достоверность отличий от группы контроля.

В модели первично-генерализованных судорог, вызванных бемегридом, антагонистом барбитурового сайта ГАМКА рецепторов, соединение ГИЖ-290 в дозе 5 мг/кг при введении его на пике бемегрид-индуцированной пароксизмальной активности (высокоамплитудных острых и медленных волн) значительно снижало число Эпи разрядов в коре и умеренно ( $p \leq 0,1$ ) в гиппокампе. Леветирацетам (200 мг/кг) не оказывал влияния на ЭПА, вызванную бемегридом (рисунок 10).

Полученные результаты в совокупности с выявленными эффектами в тесте антагонизма с коразолом, предполагают у ГИЖ-290 воздействие на функциональную активность ГАМК-ергической системы.

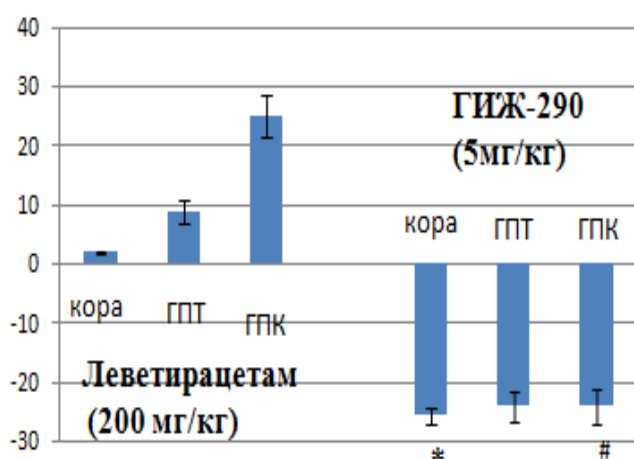


Рисунок 10 – Влияние ГИЖ-290 (5 мг/кг) и леветирацетама (200 мг/кг) на степень изменения (%) числа разрядов в структурах мозга у крыс на модели бемегридовых судорог. Примечание: по оси ординат изменение числа разрядов (%) относительно контроля с бемегридом; кора – сенсомоторная область коры, ГПТ – гипоталамус, ГПК – гиппокамп; \*  $P \leq 0.05$ , #  $P \leq 0,1$ .

### Изучение психотропной активности соединения ГИЖ-290

Соединение ГИЖ-290 (2,5 и 5 мг/кг) обладает ноотропными свойствами, выявленными в тесте лабиринта Морриса при курсовом (5 дней) введении, облегчая процессы обучения и воспроизведения пространственного навыка на 5 день тестирования. По выраженности ноотропного эффекта ГИЖ-290 не уступал пирацетаму (400 мг/кг/5 дней) и многократно превосходил его по активности (рисунок 11). Леветирацетам в дозе 600 мг/кг/5 дней не влиял на обучение, но улучшал воспроизведение памятного следа. При однократном введении ГИЖ-290 (10 мг/кг) в условиях теста спонтанного чередования рукавов Y-образного лабиринта не влиял на показатели кратковременной рабочей памяти, тогда как леветирацетам (200 мг/кг/однократно) снижал количество правильных чередований рукавов (-20%,  $p \leq 0,05$ ), что, возможно, вызвано седативным эффектом, регистрируемым также по снижению (-21%,  $p \leq 0,05$ ) общей двигательной активности в лабиринте.

В условиях методики ПКЛ соединение ГИЖ-290 (10 мг/кг/однократно) и леветирацетам (200 мг/кг/однократно) не оказывали влияния на эмоциональное состояние животных, что регистрировалось по отсутствию значимых изменений числа заходов в открытые рукава установки и времени, проведенного в них.

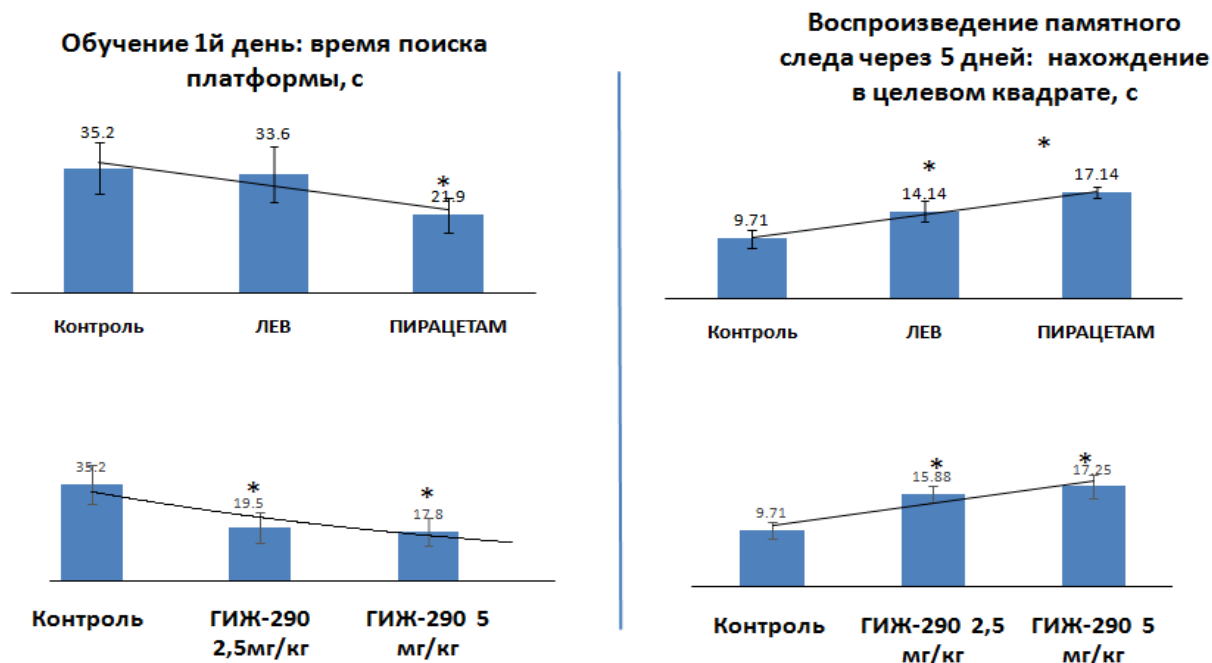


Рисунок 11 - Влияние соединения ГИЖ-290, леветирацетама (ЛЕВ, 600 мг/кг) и пирацетама (400 мг/кг) на обучение поиска скрытой платформы и воспроизведение памятного следа в водном лабиринте Морриса. *Примечание: \* $P \leq 0,05$  - достоверность отличий от группы контроля.*

#### Компоненты механизма противосудорожного действия соединения ГИЖ-290

Выявлены различия в нейрорецепторных эффектах соединения ГИЖ-290 (5 мг/кг) и леветирацетама (600 мг/кг) в условиях модели литий-пилокарпиновых судорог. Методом радиолигандного связывания установлено, что в мозге крыс на пике литий-пилокарпин (LI-PILO) - индуцированного Эпи статуса во фронтальной коре снижалась плотность ГАМКА (-49%), ГАМКВ (-23%), mGluII (-38%) рецепторов, а в гиппокампе - NMDA-рецепторов (-41%). Защитные эффекты ГИЖ-290 опосредуются восстановлением ГАМКВ рецепторов во фронтальной коре, а леветирацетама - NMDA-рецепторов в гиппокампе и ГАМКА рецепторов во фронтальной коре (рисунок 12).

Таким образом, соединение ГИЖ-290, как и леветирацетам, устраняет ЭПА у крыс с развитой Эпи системой, при этом структурной мишенью обоих веществ является гиппокамп. ГИЖ-290, как и леветирацетам, устраняет ЭПА в модели литий-пилокарпинового рефрактерного статуса, модели височной формы эпилепсии и обладает ноотропной активностью. По выраженности ноотропного эффекта и по активности ГИЖ-290 превосходит леветирацетам. В механизм действия ГИЖ-290 вовлекаются ГАМКВ рецепторы фронтальной коры, а леветирацетама – ГАМКА рецепторы той же структуры.

*Исследование выполнено совместно с сотрудниками лаборатории радиоизотопных методов исследования НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (зав. лаб. проф. Г.И. Ковалев).*

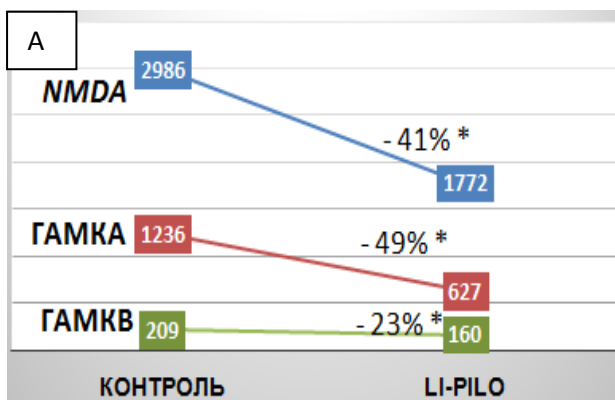
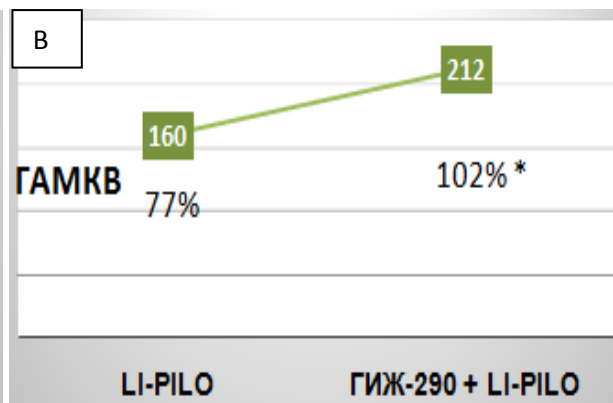
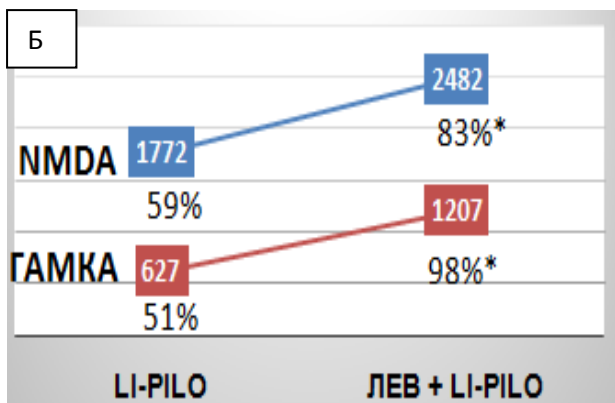


Рисунок 12 - Влияние ГИЖ-290 (5 мг/кг) и леветирацетама (600 мг/кг) на NMDA и ГАМК-рецепторы мозга крыс в условиях литий-пилокарпиновых судорог (LI-PILO). *Примечание: данные представлены в средних значениях Втах; ЛЕВ – леветирацетам; степень изменения рассчитана в % относительно контроля; \*P≤0,05 - достоверность отличий значений от группы контроля (А) и от группы LI-PILO (Б) и (В).*



### Исследование противосудорожных и нейропсихотропных эффектов соединений-лидеров из ряда оксимов дибензофуранона - ГИЖ-272 и ГИЖ-332

В условиях модели фокальной хронической эпилепсии, моделирующей первично и вторично-генерализованные судороги у крыс, ГИЖ-272 в дозе 40 мг/кг оказывал выраженный противосудорожный эффект на очаги ЭпА в гипоталамусе (снижал число разрядов) и гиппокампе (уменьшал продолжительность разрядов) на 1й стадии развития Эпи системы, и в гиппокампе на 2й стадии формирования очагов ЭпА (уменьшал число и продолжительность разрядов) (рисунок 13, 14). Соединение ГИЖ-332 в дозе 10 мг/кг оказывало наиболее выраженный противосудорожный эффект на 2й стадии развития Эпи системы в кортикограммах (рисунок 13, 14). Структурной мишенью противосудорожного действия соединения ГИЖ-272 на 1й стадии Эпи системы является гипоталамус, а на 2й – гиппокамп. Механизм действия ГИЖ-332 связан с его влиянием на очаги ЭпА сформированные в ипси и контрлатеральной коре («зеркальный очаг») на 2й стадии развития Эпи системы (рисунок 13).

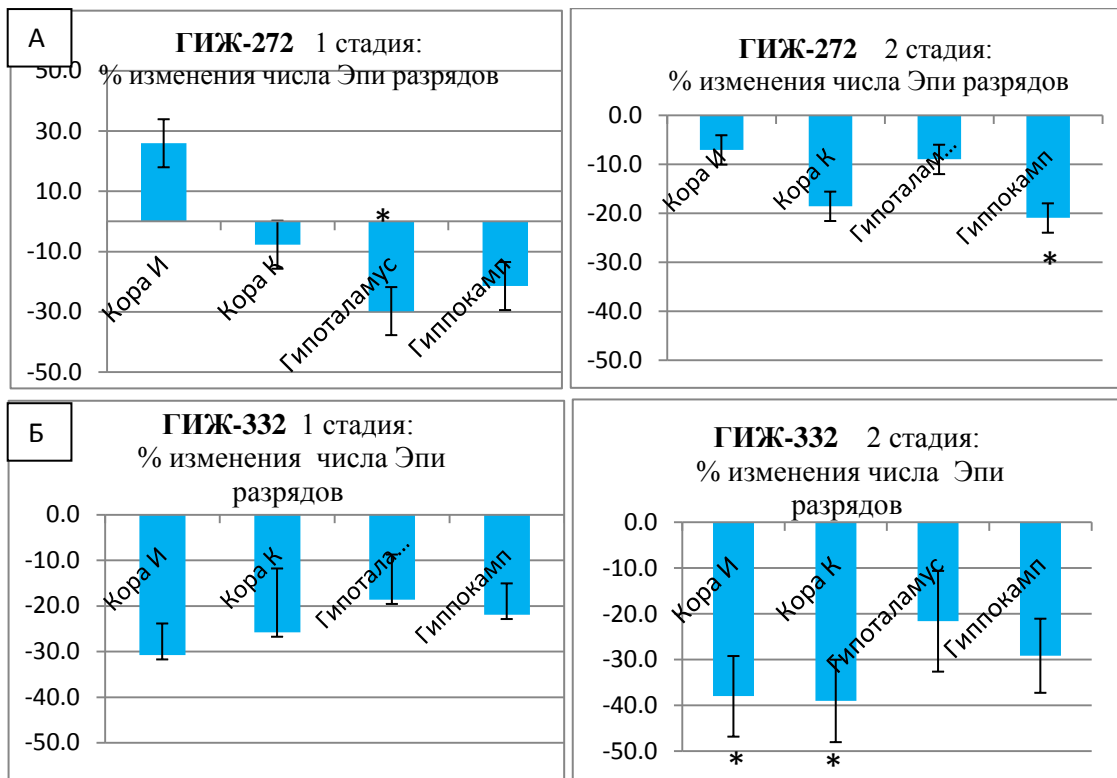


Рисунок 13 – Влияние ГИЖ-272 (40 мг/кг) (А) и ГИЖ-332 (10 мг/кг) (Б) на степень изменения (%) числа разрядов в различных структурах мозга у крыс с кобальт-индуцированным очагом на 1 и 2 стадиях формирования Эпи системы *Примечание: сокращения см на рис.2; \*P≤0.05 - достоверность отличий по сравнению с фоном.*

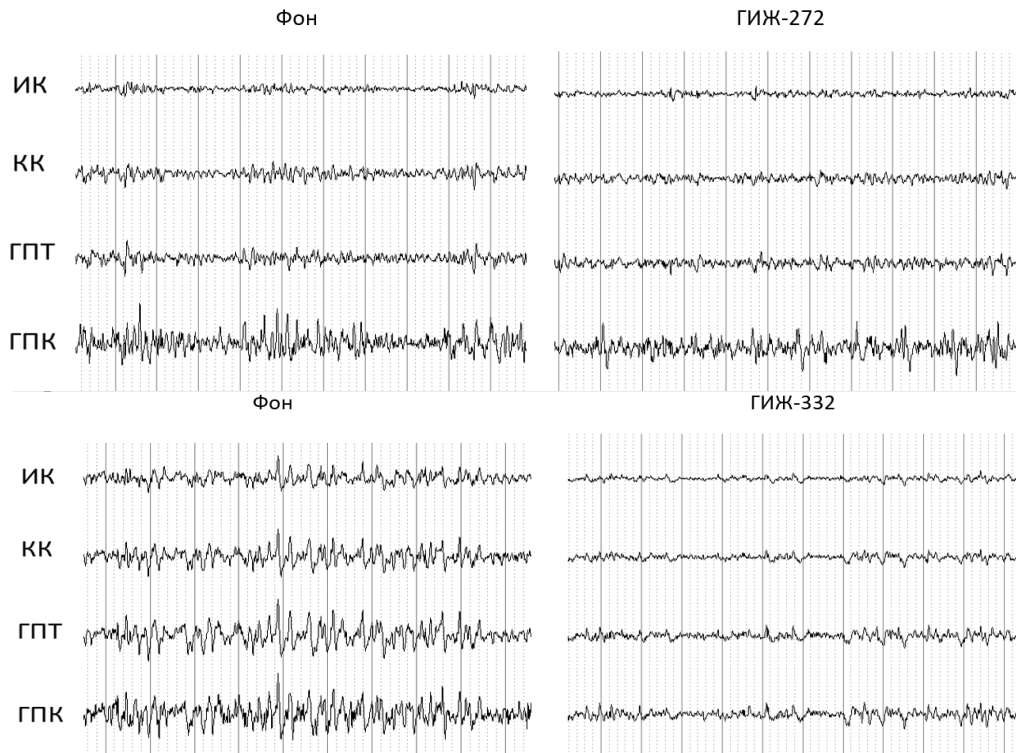


Рисунок 14 – Электрограммы структур мозга крыс с кобальтовой эпилепсией до и после введения ГИЖ-272 (40 мг/кг) и ГИЖ-332 (10 мг/кг) на 2й стадии формирования Эпи системы. *Примечание: ИК - ипсилатеральная кора, КК - контрлатеральная кора, ГПК - гиппокамп, ГПТ - гипоталамус.*



В модели генетической эпилепсии, у крыс линии КМ с предрасположенностью к аудиогенным судорогам, ГИЖ-272 (40 мг/кг/однократно) задерживал развитие спровоцированных акустическим стимулом генерализованных тонико-клонических судорог и способствовал снижению количества животных с тонической экстензией конечностей. Соединение ГИЖ-272 уступало леветирацетаму (200 мг/кг/однократно) по выраженности противосудорожного эффекта, но превосходило его по активности.

Соединение ГИЖ-332 (20 мг/кг/однократно) статистически достоверно не влияло на регистрируемые показатели судорожной активности крыс линии КМ (таблица 6).

Таблица 6 - Влияние ГИЖ-332, ГИЖ-272 и леветирацетама на аудиогенные судороги у крыс Крушинского-Молодкиной (КМ)

Группа животных	Доза, мг/кг	Выраженность судорог в баллах	ЛП судорог	% крыс с тонической экстензией передних и задних конечностей
Контроль	-	3,17 ± 0,4	25,00 ± 8,3	50 (3/6)
ГИЖ-332	20	2,67 ± 0,3	30,83 ± 8,8	16,7 (1/6)
Леветирацетам	200	1,67 ± 0,2*	70,83 ± 6,3*	0 (0/6)*
Контроль	-	4,00 ± 0,00	14,00 ± 2.43	100 (6/6)
ГИЖ-272	40	2,2 ± 0,82 p=0.08	52,20 ± 14.21*	33 (2/6) p=0.06

*Примечание: \* P≤0.05 - достоверность отличий от контрольной группы; бальную шкалу выраженности судорог см. в примечание к табл.5.*

Таким образом, ГИЖ-272 оказывает противосудорожный эффект в генетической модели эпилепсии и в хронической фокальной модели эпилепсии, тогда как ГИЖ-332 оказывает наиболее выраженный подавляющий эффект на очаги ЭПА у крыс с фокальной кобальт-индуцированной эпилепсией. Структурными мишенями воздействия для ГИЖ-272 являются гипоталамус и гиппокамп, а для ГИЖ-332 – кора.

### **Противоишемическое, противогипоксическое, цереброваскулярное и нейропротективное действие ГИЖ-272**

Противогипоксические свойства ГИЖ-272 выявлены на модели гемической гипоксии, вызванной нитритом натрия: соединение в дозе 60 мг/кг при однократном введении увеличивало время жизни животных на 27% (p≤0,05) относительно контроля. В этой же дозе ГИЖ-272 через 30 минут после однократного введения увеличивал на 65% (p≤0,05) мозговой кровоток, сниженный у крыс после преходящей глобальной ишемии мозга, и на 24% (p≤0,05) через 2 часа регистрации эффекта.

*Исследование выполнено совместно с сотрудниками лаборатории цереброваскулярных расстройств НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (зав. лаб. проф. Р.С. Мирзоян).*

Исследование противоишемических и нейропротекторных свойств соединения ГИЖ-272 при курсовом введении (7 дней) на моделях церебральных повреждений по ишемическому (глобальная ишемия мозга, ИИ) и геморрагическому типу

(геморрагический инсульт, ГИ) выявило защитный эффект в отношении гибели крыс и развития неврологических и когнитивных нарушений. ГИЖ-272 (10 мг/кг/7 дней) увеличивал количество выживших крыс с церебральным повреждением (на 33% крыс с ИИ и 35 % с ГИ) к 14 дню регистрации, ослаблял ( $p \leq 0,05$ ) выраженность легких и тяжелых неврологических нарушений (шкала Stroke-index McGrow) и устранял моторные нарушения. ГИЖ-272 восстанавливал когнитивные функции крыс с ИИ и ГИ - увеличивал время и количество посещений «нового» рукава Y-лабиринта до значений ложно оперированных (ЛО) крыс (рисунок 15).

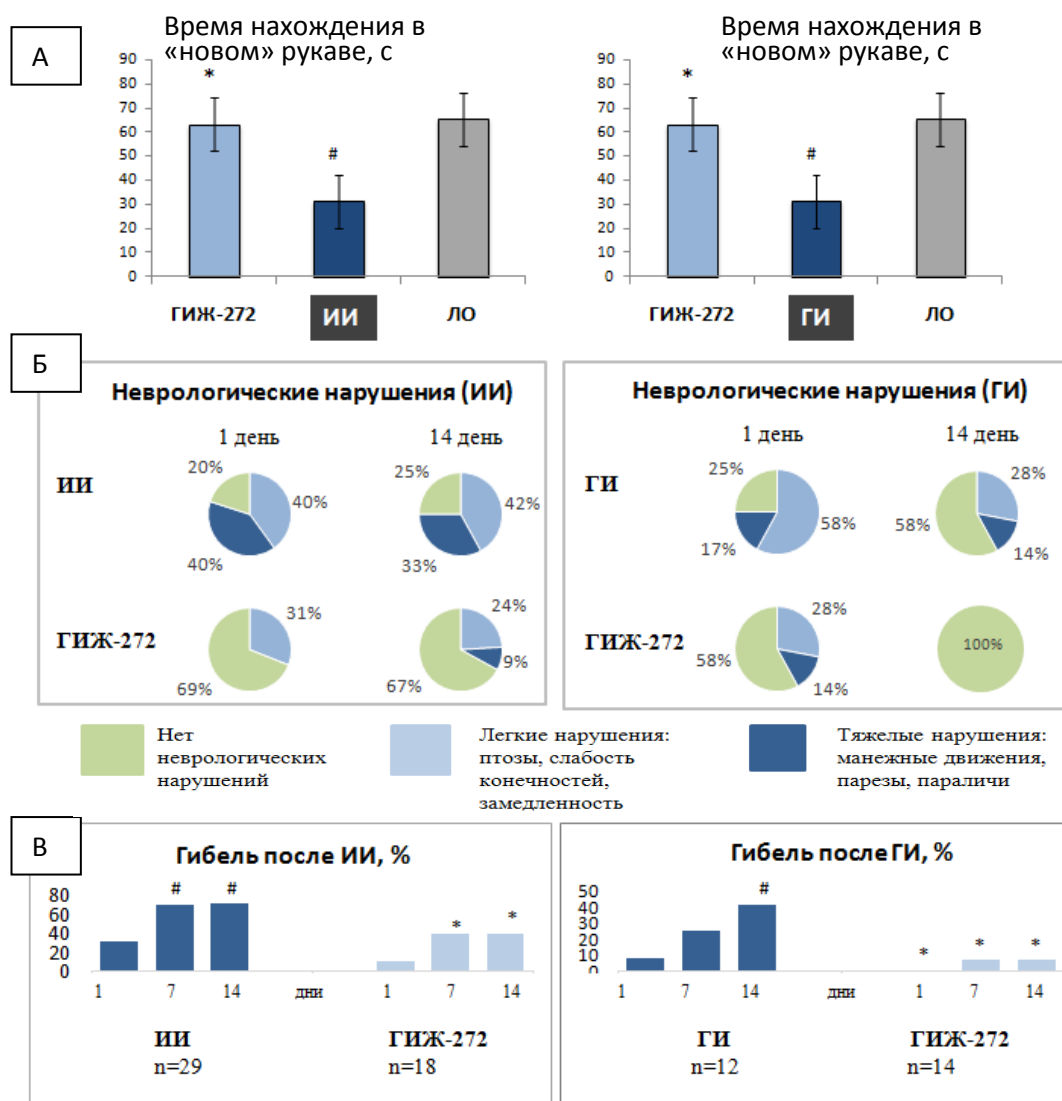


Рисунок 15 - Влияние соединения ГИЖ-272 (10 мг/кг/7дней) на показатели когнитивного (А), неврологического (Б) дефицитов и выживаемости (В). *Примечание: #P≤0.05 - достоверность отличий от группы ЛО (ложно оперированные) и \*P≤0.05 - достоверность отличий от группы ИИ (ишемический инсульт) и ГИ (геморрагический инсульт).*

Морфогистологические исследования на срезах гиппокампа и коры больших полушарий у крыс на 7 день ишемии (модель глобальной ишемии мозга) показали, что противоишемический эффект ГИЖ-272 (10 мг/кг/7 дней) сопровождался защитой от гибели нейронов - соединение в 2-3 раза увеличивало количество выживших нейронов коры и нейронов гиппокампа в поле СА3 и в 4,5 раза в зубчатой извилине гиппокампа,

уменьшая количество сморщенных и пикнотических нейронов. Соединение ГИЖ-272 способствовало сохранению гранулярного слоя коры и снижало уровень дезорганизации нейрональных слоев коры, а также снижало выраженность перичеллюлярного отека (рисунок 16).

*Исследование было выполнено совместно с сотрудниками лаборатории иммуногистохимии и клеточных моделей «Сеченовского университета».*

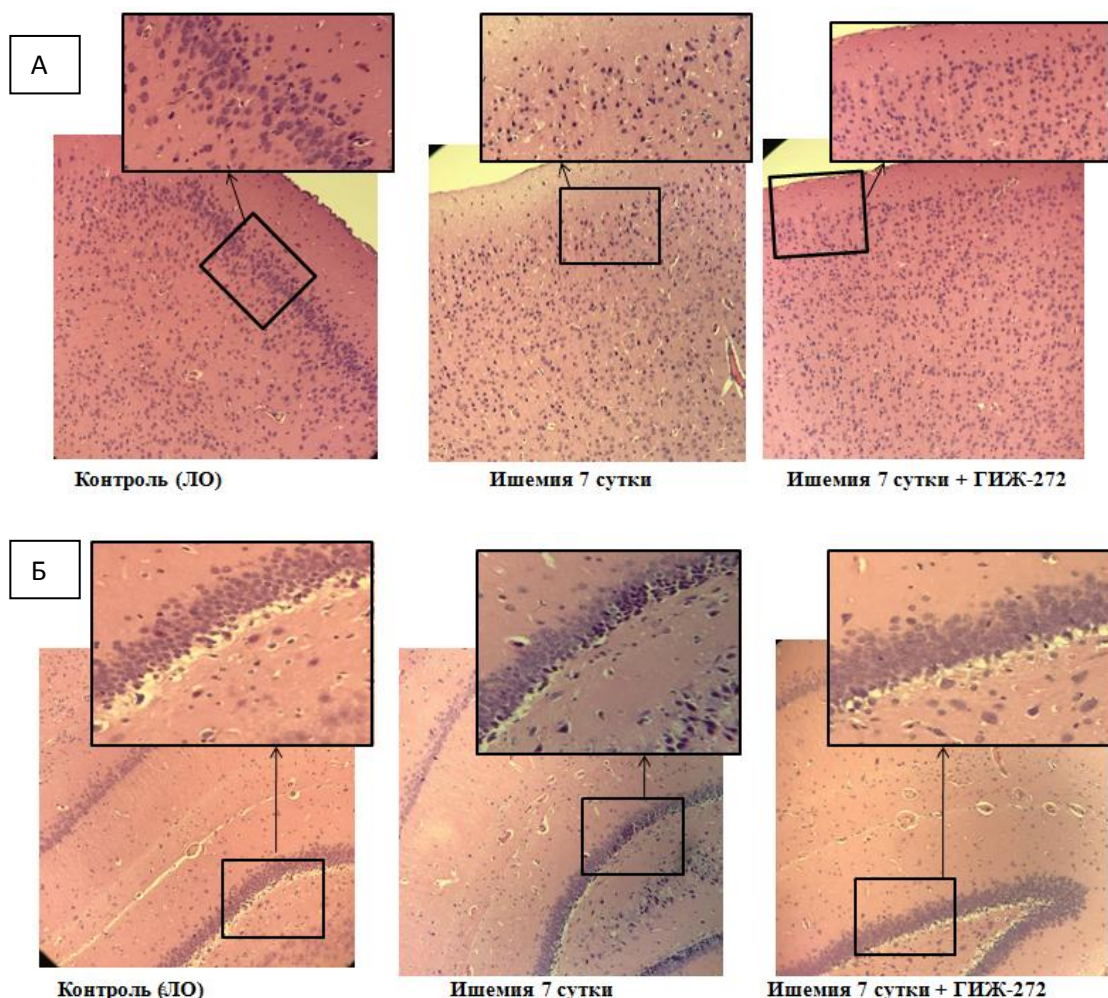


Рисунок 16 – Срезы коры больших полушарий (А) и гиппокампа (Б) крыс на 7 сутки после глобальной ишемии мозга и влияние ГИЖ-272 (10 мг/кг/7дней). *Примечание: ЛО – ложно оперированные; окраска гематоксилином и эозином; ув. 20×10. Квадратиком выделены наружный гранулярный слой нервных клеток (2 слой) коры больших полушарий и поле С3 гиппокампа.*

Наличие у соединения ГИЖ-272 противосудорожной, противоишемической, нейропротективной и противогипоксической активностей явилось основой для дальнейшего изучения в качестве средства лечения постинсультной эпилепсии. С этой целью были изучены особенности формирования пароксизмальной активности и спектральные изменения в постишемический период в течение 28 дней после создания глобальной ишемии мозга у крыс.

Оценка пароксизмальной активности на ЭЭГ крыс с ишемией выявила появление ЭПА в ранние (2-7 сутки) и поздние (с 28-х суток) периоды ишемии. Ранняя ЭПА появлялась на 2-е сутки ишемии и характеризовалась асинхронными и синхронными острыми пиками и пик-волновыми разрядами, поздняя ЭПА имела генерализованный характер. Лидирующими структурами мозга, регистрируемые по количеству и продолжительности пароксизмальных разрядов, на ранних сроках ишемии являлась кора, а на поздних - гипоталамус. Соединение ГИЖ-272 (10 мг/кг/7дней) снижало раннюю пароксизмальную активность (число и продолжительность разрядов) во всех исследуемых структурах мозга (особенно в гиппокампе и гипоталамусе) на 2 и 7 сутки ишемии и не оказывало воздействия в поздний период ишемии, что, возможно, обусловлено недостаточной длительностью введения. Леветирацетам (100 мг/кг/7дней) подавлял число и длительность разрядов во всех исследуемых структурах мозга на 2 сутки ишемии и только в гиппокампе на 7 сутки регистрации постишемических изменений. В поздний период ишемии (на 21 и 28 сутки) леветирацетам увеличивал число разрядов в стриатуме (рисунок 17).

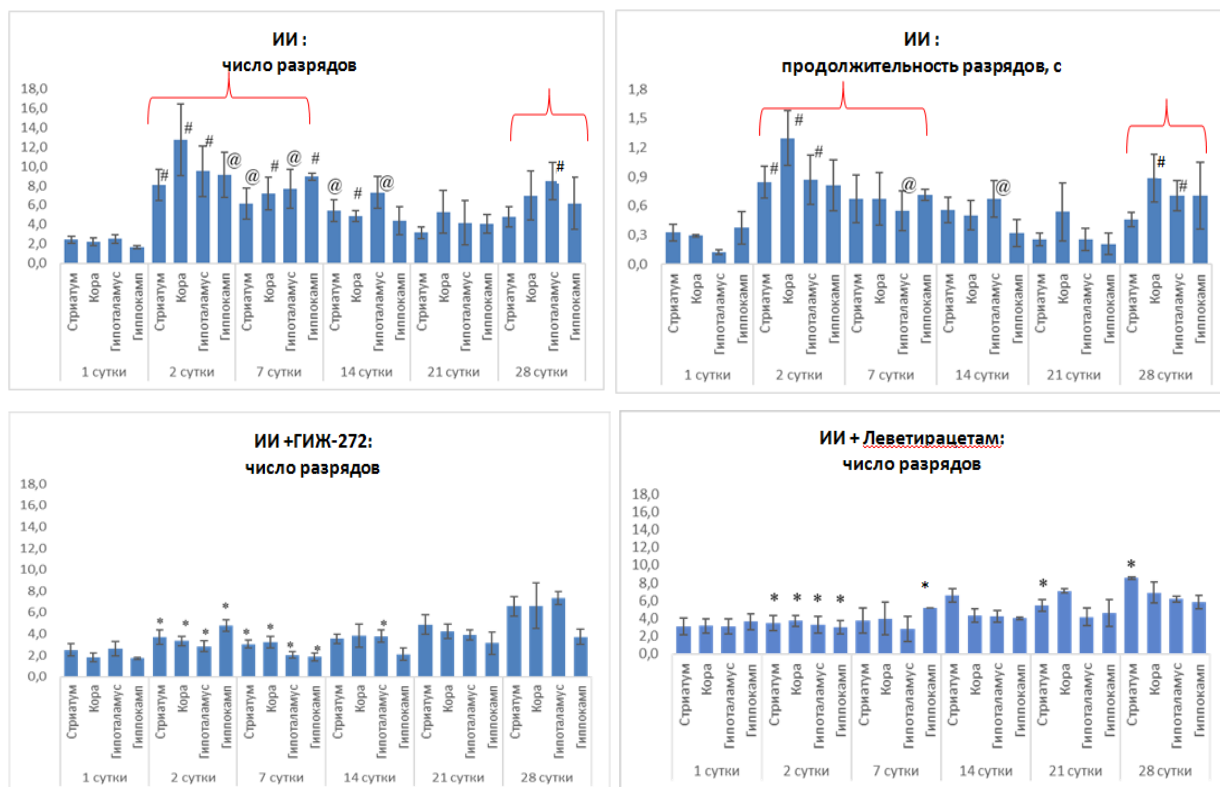


Рисунок 17 - Влияние ГИЖ-272 (10 мг/кг/7дней) и леветирацетама (100мг/кг/7дней) на динамику появления постишемической пароксизмальной активности у крыс с глобальной ишемией мозга (ИИ). *Примечание – #  $P \leq 0,05$  и @  $P \leq 0,1$  - достоверность отличий по сравнению с соответствующими сутками контрольной группы (ИИ).*

Спектральный анализ ЭЭГ крыс на 1 сутки после ишемии показал значительные изменения дельта- и тета- активности: наблюдалось замедление ритмов мозга, что регистрировалось по увеличению представленности (%) дельта волн (1-4 Гц) и снижению тета-активности (4-8 Гц) во всех исследуемых структурах мозга (кора, стриатум, гипоталамус, гиппокамп) с наибольшей выраженностью в гиппокампе и гипоталамусе

(рисунок 18). Животные с замедлением ритмов мозга на 1 сутки ИИ, как правило, не выживали и погибали в период 2 - 10 сутки. Крысы с ИИ, у которых не регистрировалось выраженных замедлений ритмов мозга - выживали. Таким образом, ишемия мозга оказывала влияние на спектральные характеристики биоритмов мозга, что свидетельствует о сопряженности изменений биоэлектрической активности с мозговым кровотоком в 1 сутки ишемии.

Соединение ГИЖ-272 (10 мг/кг/7 дней) препятствовало замедлению ритмов мозга в 1 сутки ишемии, что, возможно, обусловлено его цереброваскулярными свойствами. Леветирацетам (100 мг/кг/7 дней) устранял частотные изменения дельта- и тета волн, характерные для погибающих крыс, в стриатуме, коре, гипоталамусе, но не в гиппокампе (рисунок 18).

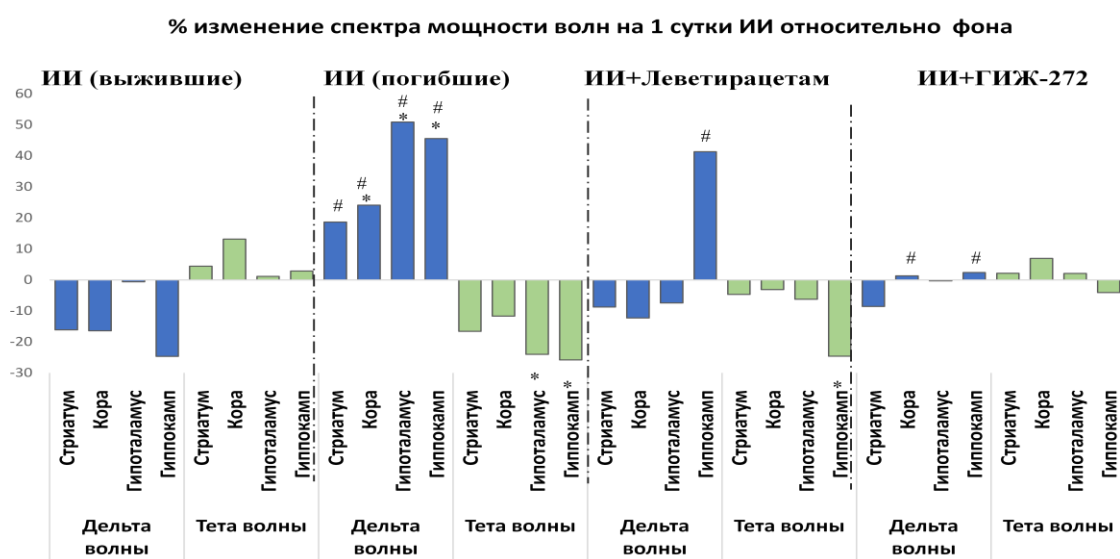


Рисунок 18 – Влияние ГИЖ-272 (10 мг/кг/7 дней) и леветирацетама (100мг/кг/7 дней) на изменение спектральной % мощности на 1е сутки ишемии. Примечание: \*  $P \leq 0,05$  - достоверность отличий по сравнению с фоновыми значениями, принятыми за 100%; #  $P \leq 0,05$  - достоверность отличий по сравнению с группой контроля с ИИ (выжившие).

Анализ дельта- и тета активности (% мощность) в динамике течения ишемии показал, что со 2-х суток ИИ у контрольных крыс, не переживших ишемию, наблюдалось прогрессирующее снижение дельта- и тета- активности во всех структурах мозга (кора, стриатум, гипоталамус, гиппокамп). У выживших контрольных крыс дельта- и тета активность в ранний постишемический период (2-7 дней) не снижалась, а в поздний период (21 и 28 сутки) % частот 3 и 4 Гц возрастал. Наибольшие изменения тета активности после ишемии наблюдались в диапазоне 6 и 7 Гц. У животных, которые впоследствии погибали (к 10 суткам ИИ) отмечались высокие значения частоты 6 Гц к 7 суткам ишемии и низкие значения частоты 7 Гц во всех структурах мозга на протяжении 7 дней после инсульта. У выживших контрольных крыс после ишемии частота 7 Гц к 7 суткам ишемии восстанавливалась до фоновых значений. Соединение ГИЖ-272 (10 мг/кг/7 дней) способствовало сохранению спектральных характеристик дельта активности

(1-4 Гц) в постишемический период со 2 по 28 сутки на уровне фоновых значений (до ишемии) и восстановлению частоты 7 Гц ко 2 суткам ишемии во всех структурах мозга. Леветирацетам (100 мг/кг/7дней) вызывал увеличение дельта активности на 28 сутки ишемии (с частотами 1 и 2 Гц) и увеличивал представленность частоты 7 Гц к 21 суткам во всех структурах мозга (рисунок 19).

Таким образом, спектральные изменения дельта и тета-активности после инсульта отражают тяжесть неврологических расстройств и предсказывают гибель животных. Пароксизмальная активность появляется со 2х суток ишемии мозга, пики которой приходятся на ранний (2-7 день) и поздний (28 день) периоды постишемического периода. Соединение ГИЖ-272 сочетает нейропротективные, противоишемические и противоэпилептические свойства. ГИЖ-272 устраняет нарушения биоэлектрической активности мозга, ведущие к эпилептизации мозга и появлению постинсультной эпилепсии, и имеет преимущества перед леветирацетамом. Соединение устраняет эпилептическую и постишемическую пароксизмальную активности в мозге с наибольшей выраженностью эффекта в гипоталамусе и гиппокампе.

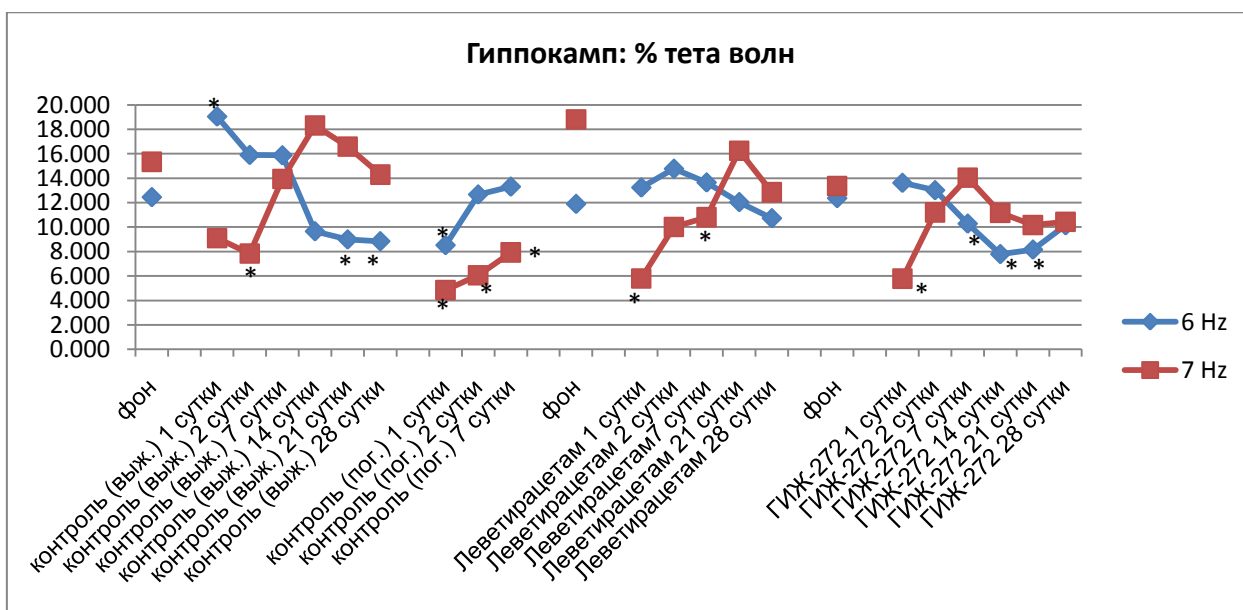


Рисунок 19 – Влияние ГИЖ-272 (10 мг/кг/7дней) и леветирацетама (100мг/кг/7дней) на изменение спектральной % мощности тета-активности (6 и 7 Гц) в постишемический период на примере гиппокампа. Примечание: \*  $P \leq 0,05$  по сравнению с фоном; контроль (выж.) – выжившие, контроль (пог.) – погибшие.

### Заключение

Проведенные исследования позволили сделать следующие обобщения. Одной из особенностей ГИЖ-298 является его способность быстро купировать развернутый эпилептический статус с полной защитой от гибели животных. В ЭЭГ исследованиях показано, что мишенями для ГИЖ-298 являются контрлатеральная кора, гиппокамп и гипоталамус. По активности, выраженности эффекта и скорости его наступления ГИЖ-298 превосходит вальпроевую кислоту. Выявлен выраженный дозозависимый

анксиолитический эффект. Установлены компоненты механизма реализации противосудорожного действия ГИЖ-298 основанные на способности снижать чрезмерно-активированную функциональную активность дофаминергической системы и ERK1/2 киназ в стриатуме, восстанавливать плотность D2-рецепторов и содержание норадреналина в стриатуме и баланс тормозных аминокислот (глицин, ГАМК, таурин) в гипоталамусе.

Особенностью действия ГИЖ-290 является его способность устранять эпилептические проявления у крыс с развитой эпилептической системой и судороги, вызванные литий-пилокарпином, подобно структурному аналогу леветирацетама. Структурой-мишенью для ГИЖ-290 и леветирацетама является гиппокамп. ГИЖ-290 обладает ноотропной активностью. По выраженности эффектов и по активности ГИЖ-290 превосходит леветирацетам. В механизм противосудорожного действия ГИЖ-290 вовлекаются ГАМКВ-рецепторы, а в противосудорожный эффект леветирацетама ГАМКА-рецепторы.

Установлены особенности эффектов производных оксимов дибензофурана (ГИЖ-272, ГИЖ-332) в условиях различных судорожных состояний и моделей инсульта. Соединение ГИЖ-332 оказывает наиболее выраженный эффект на 2-й стабильной стадии развития эпилептической системы и его структурными мишенями воздействия являются ипси- и контрлатеральная кора. Соединение ГИЖ-272 оказывает противосудорожный эффект в хронической очаговой модели эпилепсии преимущественно на 1й стадии развития эпилептической системы, и в генетически обусловленной модели аудиогенной эпилепсии. Структурными мишенями действия ГИЖ-272 являются гиппокамп и гипоталамус, что совпадает с ЭЭГ мишенями, выявленными на модели глобальной ишемии. ГИЖ-272 обладает противоишемической, нейропротективной и антигипоксической активностями. Особенностью ГИЖ-272 является способность устранять пароксизмальную активность, вызванную ишемией мозга, и восстанавливать пространственно-временные характеристики биоритмов мозга после инсульта.

## **ВЫВОДЫ**

1. Выявлены новые соединения в рядах производных оксима бензоилпиридина (ГИЖ-298) и оксима дибензофуранона (ГИЖ-332, ГИЖ-272), а также 4-фенилпирролидона (ГИЖ-290), обладающие противосудорожной активностью, малой токсичностью и имеющие различные нейропсихотропные и нейропротекторные свойства.

2. ГИЖ-298 (оксалат О-2-морфолинэтилоксим 4-бензоилпиридина) в дозах 40-60 мг/кг полностью устраняет ЭЭГ корреляты Эпи активности мозга, как на начальной, так и на развернутой стабильной стадии формирования Эпи системы в хронической кобальтовой модели эпилепсии. В отличие от вальпроевой кислоты ГИЖ-298 в 100% случаев устраняет эпилептический статус, вызванный нейротоксином гомоцистеина тиолактоном, и сочетает противосудорожную активность и анксиолитические свойства.

3. ГИЖ-290 (2,6-диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты) в дозах 5-10 мг/кг снижает Эпи активность мозга во второй развернутой стадии Эпи системы у крыс с кобальт-индуцированным очагом и защищает от гибели в условиях модели пилокарпинового и литий-пилокарпинового Эпи статуса в дозах более, чем в 60 раз ниже, чем у леветирацетама. ГИЖ-290 проявляет ноотропную активность.

4. ГИЖ-332 (О-(2-хлорбензоил) оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[b,d]фуран-1(2Н)-она) в дозе 10 мг/кг снижает Эпи активность преимущественно на 2 стадии формирования Эпи системы у крыс с хронической очаговой кобальт-индуцированной эпилепсией; в 100% случаев защищает от коразол-индуцированных судорог. ГИЖ-272 (40 мг/кг) устраняет кобальт-индуцированную Эпи активность преимущественно на 1 стадии развития Эпи системы; сочетает антигипоксические и нейропротективные свойства, защищая от гибели и развития когнитивного и неврологического дефицита на моделях ишемического и геморрагического инсульта.

5. Ишемическое повреждение мозга вызывает две волны ЭЭГ проявлений пароксизмальной активности в постинсультный период: раннюю неэпилептическую (2-7 день) и позднюю эпилептическую (28 сутки), сопровождающуюся у животных снижением порогов судорожной готовности мозга. Лидирующей структурой по числу разрядов в раннем периоде является кора, а в позднем – гипоталамус. Спектральные изменения дельта и тета-активности после инсульта отражают тяжесть неврологических расстройств и предсказывают гибель животных.

6. ГИЖ-272 (О-(4-циннамоил) оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[b,d]фуран-1(2Н)-она) (10 мг/кг/ 7 дней) устраняет постишемическую пароксизмальную активность в течение первых 7 дней после инсульта и нормализует показатели дельта- и тета-активности на протяжении всего периода (1-28 дней). Лидирующими структурами воздействия соединения, выявленными по выраженности подавления пароксизмальной активности, являются гипоталамус и гиппокамп.

7. Установлены ведущие структурные «мишени» действия лидерных соединений по их способности максимально уменьшать число Эпи разрядов и их длительность в структурах мозга животных: для ГИЖ-298 мишенью является контрлатеральная кора, гиппокамп и гипоталамус, для ГИЖ-272 – гипоталамус и гиппокамп, для ГИЖ-332 – кора, а для ГИЖ-290 – гиппокамп.

8. Установлены компоненты нейрохимического механизма реализации противосудорожного действия лидерных соединений. ГИЖ-290 в гиппокампе в условиях модели литий-пилокарпиновых судорог восстанавливает до нормы плотность (*Bmax*) ГАМКв-рецепторов, а леветирацетам – количество ГАМКА-рецепторов. ГИЖ-298 в модели МЭШ-индуцированных судорог защищает от падения количества D2-подобных рецепторов в стриатуме, от сверхактивности метаболизма дофамина в стриатуме и



сверхэкспрессии форфорилированной формы ERK1/2 киназ (MAP-киназы) в стриатуме, а также нормализует баланс тормозных нейромедиаторных кислот в гипоталамусе.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Выявлены новые высокоэффективные соединения в трех рядах химических соединений – производных 4-фенилпирролидона, оксимов 4-бензоилпиридина и дибензофурана(нона). Установлены особенности их спектров противосудорожного действия, психотропной активности и структурные мишени воздействия. Определены перспективы их дальнейшей разработки в качестве препаратов для индивидуальной фармакотерапии с учетом особенностей эпилептической системы пациента, воздействия на структуры мозга, генерирующие ЭПА, а также на сопутствующие коморбидные заболевания.

Среди производных оксима бензоилпиридина выявлено соединение ГИЖ-298, которое обладает противозепилептической активностью на разных моделях эпилепсии, в том числе обладает уникальной способностью полностью устранять проявления эпилептического статуса, и имеет преимущества перед бензодиазепинами и вальпроатами, а также обладает анксиолитическими свойствами (Патент РФ 2643091 С2). Среди производных оксима дибензофурана выявлено соединение ГИЖ-272, оказывающее выраженное нейропротективное действие и противосудорожное действие (Патент РФ 2744758 С2), установлено корректирующее влияние ГИЖ-272 на ЭЭГ маркеры пароксизмальной активности и нейрональной дисфункции на модели глобальной ишемии. Среди производных 4-фенилпирролидона выявлено соединение ГИЖ-290, которое сочетает противозепилептическую активность и способность улучшать когнитивные функции и превосходит по активности структурный аналог леветирацетам (Патент РФ 2748419 С2).

Полученные данные являются основой для расширенного преclinical изучения оригинальных соединений ГИЖ-298, ГИЖ-290 и ГИЖ-272 с целью их дальнейшего внедрения в клиническую практику для лечения различных форм эпилепсии: ГИЖ-298 в качестве средства лечения очаговой (фокальной) эпилепсии, эпилептического статуса, в том числе рефрактерного; ГИЖ-290 в качестве средства лечения парциальных судорог, ювенильной миоклонической эпилепсии с нарушением когнитивных функций; ГИЖ-272 для лечения постинсультной эпилепсии, пост-травматической эпилепсии, пост-инсультных и пост-судорожных когнитивных нарушений. ГИЖ-272 сочетает противосудорожные и нейропротективные свойства и поэтому может быть использован не только для устранения судорожной симптоматики, но и для замедления прогрессирования эпилепсии.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

#### **Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России**

1. Писклова М.В. Влияние производного ряда о-(2-г-оксим 4-бензоил) пиридинов ГИЖ-298 и Топирамата на содержание моноаминов и их метаболитов в

структурах мозга крыс: нейрохимическое изучение / Писклова М.В., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Жмуренко Л.А., Гайдуков И.О., Наркевич В.Б., Кудрин В.С. // Нейрохимия. – 2017. – Т. 34, № 3. – С. 1–5.

2. Ковалев И.Г. Сравнение противосудорожных и мнемотропных свойств новых производных 4-фенилпирролидона, леветирацетама и пирацетама / Ковалев И.Г., Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Жмуренко Л.А., Мокров Г.В. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80, № 6. – С.13-18.

3. Жмуренко Л.А. Синтез и противосудорожная активность оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов / Жмуренко Л.А., Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Неробкова Л.Н., Гайдуков И.О., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т. 51, №12. – С. 116-125.

4. **Литвинова С.А.** Сравнение эффектов и электрофизиологических механизмов действия вальпроевой кислоты и леветирацетама на экспериментальной модели очаговой эпилепсии. / Литвинова С.А., Авакян Г.Г., Воронина Т.А., Гайдуков И.О., Неробкова Л.Н., Кутепова И.С., Авакян Г.Н. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2018. – Том 12, № 3. – С.45-52.

5. **Литвинова С.А.** Исследование противосудорожных и противогипоксических свойств гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина / Литвинова С.А., Воронина Т.А., Кутепова И.С., Авдюнина Н.И., Пятин Б.М. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 3. – С. 3-6.

6. **Литвинова С.А.** Особенности действия леветинола на развитие судорожной активности у крыс с кобальт-индуцированной хронической эпилепсией / Литвинова С.А., Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Кутепова И.С., Авакян Г.Г., Авакян Г.Н. // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2018. – Т. 10. № 1. – С. 52-62.

7. Жмуренко Л.А. Синтез и противосудорожная активность производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов / Жмуренко Л.А., Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Неробкова Л.Н., Гайдуков И.О., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52, № 1. – С. 19-28.

8. Воронина Т.А. Возможности фармакологической коррекции нарушений, возникающих при ишемии мозга и пароксизмальных состояниях. Производные дибензофурана / Воронина Т.А., **Литвинова С.А.** // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2019. – Т. 17., №1. С. 65-70.

9. **Litvinova Svetlana.** Levetiracetam effect and electrophysiological mechanism of action in rats with cobalt-induced chronic epilepsy/ Litvinova Svetlana, Voronina Tatyana, Nerobkova Lubov, Kutepova Inga, Avakyan Georgii, and Avakyan Gagik. // European journal of pharmacology. – 2019. – 5:854. – P. 380-386.

10. **Litvinova S. A.** A Study of the Effect of Derivative of Oximes Pyridine (GIZh-298) on the Contents of Monoamines and Their Metabolites in the Rat Brain during Seizures Induced by Maximal Electroshock / Litvinova S. A., Narkevich B. V., Gaidukov I. O., Kudrin V. S., and Voronina T. A.// Neurochemical Journal. – 2019. – Vol. 13, No. 3. – P. 268-273.

11. **Литвинова С.А.** Противоишемические и цереброваскулярные свойства производного оксима дибензофурана ГИЖ-272 / Литвинова С.А., Кутепова И.С., Курза Е.В., Кондратова М.Д., Воронина Т.А., Ганьшина Т.С., Жмуренко Л.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. - № 6. – С. 3-7.

12. **Литвинова С.А.** Влияние лакосамида на эпилептиформную активность и динамику структурно-функциональных связей эпилептической системы крыс с хронической фокальной эпилепсией / Литвинова С.А., Авакян Г.Г., Неробкова Л.Н., Воронина Т.А., Гладышева Н.А. // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2019. – Т.11. – №1. – С. 37-46.
13. Мокров Г.В. Синтез и противосудорожная активность N-замещенных 4-амино-3-нитрокумаринов / Мокров Г.В., Савельев В.Л., Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Ковалев И.Г., Неробкова Л.Н., Дмитриенко А.О., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т.53, № 2. – С. 25-31.
14. Мокров Г.В. Синтез и противосудорожная активность 4-амино-3-нитро-1-тиокумаринов и 4-амино-3-нитрохинолин-2-онов / Мокров Г.В., Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Ковалев И.Г., Неробкова Л.Н., Дурнев А.Д., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 3. – С. 3-9.
15. Жмуренко Л.А. Синтез, противосудорожная, антигипоксическая и противоишемическая активность производных оксима дибензофуранона / Жмуренко Л.А., **Литвинова С.А.**, Кутепова И.С., Неробкова Л.Н., Мокров Г.В., Ребеко А.Г., Воронина Т.А., Гудашева Т.А. // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 11. – С. 9-16.
16. Жмуренко Л.А. Синтез, противосудорожная и ноотропная активность производных 4-фенилпирролидона / Жмуренко Л.А., **Литвинова С.А.**, Мокров Г.В., Ковалев И.Г., Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Гудашева Т.А. // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 5. – С. 20-27.
17. Grigory Mokrov. Design, synthesis, and anticonvulsant evaluation of 4-GABA-3-nitrocoumarines, 1-thiocoumarines, quinolone-2-ones, and their derivatives / Grigory Mokrov, **Svetlana Litvinova**, T. A. Voronina, L. N. Nerobkova, T. A., I. S. Kutepova, Ivan Kovalev, T.A. Gudasheva. // Medicinal Chemistry Research. – 2019. – V. 28 (11). – P. 901–1911.
18. Кутепова И.С. Противосудорожная активность производных дибензофурана в эксперименте. / Кутепова И.С., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Мокров Г.В., Жмуренко Л.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т. 82, № 8. – С. 3-8.
19. Gaydukov I.O. Anticonvulsant activity of new 3- and 4-benzoilpiridines oxime derivatives in comparison with valproic acid / Gaydukov I.O., Voronina T. A, **Litvinova S. A.**, Kutepova I. S. // Medicinal Chemistry Research. – 2020. – V. 29 (4). – P. 783-792.
20. Жмуренко Л.А. Синтез аминоалкильных производных оксима дибензофуранона, обладающих противосудорожной активностью / Жмуренко Л.А., **Литвинова С.А.**, Мокров Г.В., Ивашова Д.М., Ребеко А.Г., Воронина Т.А., Гудашева Т.А. // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Том 54, № 10. – С. 15-20.
21. Кутепова, И.С. Исследование нового производного оксима дибензофурана ГИЖ-272 на моделях очаговой эпилепсии и интрацеребральной посттравматической гематомы / Кутепова, И. С., **Литвинова, С. А.**, Воронина, Т. А., Жмуренко, Л. А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – 83(9). – С.3-8.
22. **Litvinova S. A.** Levetiracetam effect on behavioral and electrophysiological parameters in rat model of global brain ischemia / Litvinova S. A., Kutepova, I. S., Voronina, T. A., & Petrunina, A. A. // Epilepsy Research. – 2020. – Т. 167. – С. 106466.

23. Lyubov N. Chuvakova. Transcriptome of the Krushinsky-Molodkina Audiogenic Rat Strain and Identification of Possible Audiogenic Epilepsy-Associated Genes / Lyubov N. Chuvakova<sup>1</sup>†, Sergei Yu Funikov<sup>1</sup>†, Alexander P. Rezykh<sup>1,2</sup>, Artem I. Davletshin<sup>1</sup>, Michael B. Evgen'ev<sup>1</sup>, **Svetlana A. Litvinova**<sup>3</sup>, Irina B. Fedotova<sup>4</sup>, Inga I. Poletaeva<sup>4</sup> and David G. Garbuz<sup>1</sup>. // *Front. Mol. Neurosci.* – 2021. – Vol.14. – P. 1-16.

24. Кутепова И.С. Особенности спектра противосудорожной активности соединения ГИЖ-332 (производное дибензофуранона) в зависимости от локализации доминантного очага / Кутепова И.С., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Яковлева А.А., Гладышева Н.А. // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2021. – Т. 84. № 10. – С. 3-9.

25. **Svetlana A. Litvinova.** ERK1/2 kinases and dopamine D2 receptors participate in the anticonvulsant effects of a new derivative of benzoylpyridine oxime and valproic acid / Svetlana A. Litvinova, Tatyana A. Voronina, Evgeny A. Kondrakhin, Igor O. Gaydukov, Artem I. Davletshin, Ekaterina V. Vasileva, Georgy I. Kovalev, David G. Garbuz // *European Journal of Pharmacology.* –2021. – Vol.903. –P. 174150.

26. Гайдуков И.О. Влияние максимального электрошока и противосудорожных препаратов на концентрацию продуктов перекисного окисления липидов в эксперименте на мышах / Гайдуков И.О., **Литвинова С.А.**, Золотов Н.Н., Котельникова С.О., Воронина Т.А. // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2022. – № 2. – С. 11-16.

27. Гайдуков И.О. Влияние нового производного оксима 4-бензоилпиридина – ГИЖ-298 и вальпроевой кислоты на тревожное и депрессивноподобное состояния, когнитивные функции в эксперименте / Гайдуков И.О., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Гладышева Н.А., Волкова А.В. // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2022. – Т.85, №7. – С. 8-12.

28. Яковлева А.А. Изучение потенцирования эффектов вальпроевой кислоты и карбамазепина фенозановой кислотой с анализом нейрохимических показателей / Яковлева А.А., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Ивашова Д.М., Касабов К.А., Гущина Е.Е., Морозов С.В., Кудрин В.С. // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2022. – Т. 85. № 12. – С. 31-37.

29. Garbuz D.G. Rodent Models of audiogenic epilepsy: genetic aspects, advantages, current problems and perspectives / Garbuz D.G., Davletshin A.A., **Litvinova S.A.**, Fedotova I.B., Surina N.M., Poletaeva I.I. // *Biomedicines.* – 2022. – Vol. 10, N 11. – 2934.

30. **Litvinova S. A.** Participation of Brain Receptors in the Mechanism of Anticonvulsant Action of the New 4-Benzoylpyridine Oxime Derivative GIZH-298 / **Litvinova S. A.**, Kondrakhin E. V., Voronina T. A., Vasil'eva E. V., and Kovalev G. I. // *Neurochemical Journal.* – 2023. – Vol. 17, No. 1. – P.75-83.

31. **Litvinova S. A.**The Role of Brain Monoamines in the Formation of Audiogenic Myoclonic Seizures in Krushinsky–Molodkina Rats / Litvinova S. A., Voronina T. A., Kudrin V. S., Narkevich V. B., Surina N. M., Poletaeva I. I., and Fedotova I. B. // *Neurochemical Journal.* – 2023. – Vol. 17. No. 1, – P. 84–90.

#### Статьи в журналах, индексируемых РИНЦ

32. Воронина Т.А. Новые бимолекулярные мишени для создания противоэпилептических препаратов / Воронина Т.А., Авакян Г.Н., Неробкова Л.Т.,

**Литвинова С.А.**, Авакян Г.Г. // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2015. – Том 7, №4. – С. 59-64.

33. Воронина Т.А. Сравнительные противосудорожные и противогипоксические эффекты астрокса и мексидола в инъекционных лекарственных формах и 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината в субстанции / Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Неробкова Л.Н., Авакян Г.Г., Гайдуков И.О., Авакян Г.Н. // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2016. – Т. 8, №1. – С. 115-121.

34. **Литвинова С.А.** Нейропротективные свойства производного фурана — соединения ГИЖ-276 на модели геморрагического инсульта / Литвинова С.А., Золотов Н.Н., Воронина Т.А., Кутепова И.С., Жмуренко Л.А. // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – № 3. – С. 31-33.

35. **Литвинова С.А.** Изучение электрофизиологических и нейрохимических механизмов противосудорожных эффектов нового оригинального соединения ГИЖ298 / Литвинова С.А., Воронина Т.А., Кудрин В.С., Гайдуков И.О., Неробкова Л.Н., Писклова М.В., Авакян Г.Г., Жмуренко Л.А. // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2016. – Т. 8, №3. – С. 19-26.

36. Воронина Т.А. Противосудорожное действие производного 4-бензоилпиридина (ГИЖ-298) на пароксизмальную активность в структурах мозга крыс с кобальт-индуцированной очаговой эпилепсией на первой стадии формирования эпилептической системы / Воронина Т.А., Гайдуков И.О., **Литвинова С.А.**, Неробкова Л.Н., Жмуренко Л.А. // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – №2. – С.37-39.

37. Гайдуков И.О. Исследование противосудорожного действия производного оксима 4-бензоилпиридина (ГИЖ-298) и вальпроевой кислоты на модели эпилептического статуса у крыс с кобальт-индуцированным очагом / Гайдуков И.О., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Жмуренко Л.А., Мокров Г.В., Авакян Г. Г., Кутепова И.С. // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2017. – Т. 9, № 2. – С. 57-66.

38. Авакян Г.Г. Новые подходы в лечении эпилепсии / Авакян Г.Г., Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Неробкова Л.Н., Балабаньян В.Ю., Никонова А. А., Авакян Г.Н. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2017. - Т. 11, № 3. – С. 15-22.

39. Воронина Т.А. Изучение действия соединения ГИЖ-290 и леветирацетама на эпилептическую активность в структурах мозга крыс на ЭЭГ модели судорог, вызванных бемегридом / Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Ковалев И.Г. // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. - №4. – С.14-19

40. Воронина Т.А. Изучение электрофизиологических механизмов противосудорожного действия оригинального аналога леветирацетама – соединения ГИЖ-290./ Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Гладышева Н.А., Яковлева А.А. // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. № 1. – С. 38–44.

41. Воронина Т.А. Гендерные различия в формировании эпилептической системы у самцов и у самок крыс в зависимости от стадий эстрального цикла на модели очаговой кобальтовой эпилепсии / Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Филатова Ю.Б. // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – № 3. – С. 26-31

#### Патенты

1. RU 2643091 С2 «Производные оксимов 4-бензоилпиридина, обладающие противосудорожной активностью, как средства лечения эпилепсии и пароксизмальных

состояний» Дурнев А.Д., Воронина Т.А., Литвинова С.А., Неробкова Л.Н., Гайдуков И.О., Гудашева Т. А., Жмуренко Л.А., Мокров Г.В. Оpubл. 31.01.2018. Бюл. № 4.

2. RU 2744758 С2 «Производные оксимов дибензофуранов, обладающие противосудорожной и нейропротективной активностью» Воронина Т.А., Литвинова С.А., Кутепова И.С., Неробкова Л.Н., Жмуренко Л.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Дурнев А.Д. Оpubл. 15.03.2021. Бюл. № 8.

3. RU 2748419 С2 «Производные 4-фенилпирролидона, обладающие противосудорожной и ноотропной активностью, как средства лечения эпилепсии и пароксизмальных состояний». Середенин С.Б., Воронина Т.А., Литвинова С.А., Неробкова Л.Н., Гайдуков И.О., Гудашева Т. А., Жмуренко Л.А., Мокров Г.В. Оpubл. 25.05.2021. Бюл. № 15.

#### Тезисы докладов

1. Кутепова И. С., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А. Исследование порога судорожных проявлений у животных после перенесенного инсульта // Сеченовский Международный Биомедицинский Саммит 2017 (СМБС-2017) – 2017. – С.73.

2. Воронина Т.А., **Литвинова С.А.**, Неробкова Л.Н., Ковалев Г.И., Гайдуков И.О., Авакян Г.Г., Жмуренко Л.А., Мокров Г.В. Ориентированный поиск противоэпилептических препаратов. производные бензоилпиридина и фенилпирролидона - новые классы соединений с противосудорожной активностью. (тезисы доклада) // Материалы V съезда фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств», 2018. Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. № S. - С. 46.

3. Кутепова И.С., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А. Исследование влияния соединений с противосудорожной активностью на судорожный порог у животных после перенесенного инсульта // Материалы V съезда фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств, 2018. Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. № S. – С. 138.

4. Наркевич В.Б., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Кудрин В.С. Сравнительное изучение эффектов потенциального антиконвульсанта ГИЖ-298 и топирамата на содержание нейротрансмиттеров и их метоболитов в структурах мозга в условиях судорог, вызванных максимальным электрошоком // Материалы V съезда фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств, 2018. Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. № S. – С. 170-171.

5. **Litvinova S.A.**, Kutepova I.S Effect of ischemic brain damage on bioelectric activity in model of global ischemia in rats // 5th Annual Conference on Stroke and Neurological Disorders, Turkey, 12-13 November 2018.

6. Voronina T.A., **Litvinova S.A.**, Gmurenko L.A., Gaidukov I.O. Mokrov G.V., Gudasheva T.A., Durnev A.D. Derivatives of oximes of 3 - and 4 - benzoylpyridine – a new class of compounds with anti-epileptic properties // MedChem Russia 2019. Abstract book of 4th Russian conference on Medical Chemistry with international participants. 2019. — P. 137.

7. Voronina T.A., **Litvinova S.A.**, Gmurenko L.A., Gaidukov I.O. Mokrov G.V., Gudasheva T.A., Durnev A. D. Derivatives of oximes of 3 – and 4 – benzoylpyridine – a new class of compounds with anti-epileptic properties. // MedChem Russia 2019. Abstract book of 4<sup>th</sup> Russian conference on Medical Chemistry with international participants. 2019. — P. 137.

8. Kuteпова I., Petrunina A., **Litvinova S.** Levetiracetam effect on bioelectric activity in model of global ischemia in rats // Materials of World Brain Congress. – Hong Kong, China. 2019.

9. Кутепова И.С., **Литвинова С.А.**, Воронина Т.А., Петрунина А.А., Гладышева Н.А., Кондратова М.Д., Жмуренко Л.А. Исследование противоэпилептической активности производных оксима дибензофурана на модели фокальной эпилепсии // Материалы VIII межрегиональной (с международным участием) научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики и лечения заболеваний нервной системы». – Саратов. – 2019.

10. Гарбуз Д.Г., **Литвинова С.А.**, Гайдуков И.О., Давлетшин А.И., Воронина Т.А. Новый прототип противосудорожного препарата с механизмом действия, основанным на ингибировании ERK1/2. Сборник тезисов докладов Шестой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» под редакцией К.В. Кудрявцева и Е.М. Паниной. М.: «Перо». – 2020. – С. 21.

11. Garbuz, D.G.; Gaydukov, I.O.; Davletshin, A.; Zatsepina, O.G.; Voronina, T.A.; **Litvinova, S.A.** A novel anticonvulsant drug prototype with high inhibition effect on ERK1/2 pathway // FEBS Open Bio. Abstracts of the 45th FEBS Congress. – 2021. № S1. – Т. 11. – С.202.

12. Chuvakova, L.N.; Funikov, S.Y.; Rezvykh, A.P.; Davletshin, A.I.; **Litvinova, S.A.**; Fedotova, I.B.; Poletaeva, I.I.; Garbuz, D.G. Transcriptome of the audiogenic rat strain and identification of possible audiogenic epilepsy-associated genes // FEBS Open Bio. Abstracts of the 45th FEBS Congress. – 2021. № S1. – Т. 11. – С.206-207.

13. Кутепова И.С., **Литвинова С.А.**, Петрунина А.А., Гладышева Н.А., Воронина Т.А. Исследование судорожного порога в постишемический период // Тезисы докладов II Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии», Москва. – 2021. – С. 20-23.

14. Кутепова И.С., **Литвинова С.А.**, Петрунина А.А., Гладышева Н.А., Воронина Т.А. Противосудорожная активность производного оксима дибензофурана ГИЖ-332 в экспериментальных моделях судорог, вызванных максимальным электрошоком, пентилентетразолом и кобальтом // Тезисы докладов II Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии», Москва. – 2021. – С.118-120.

15. Кутепова И.С., **Литвинова С.А.**, Гладышева Н.А., Воронина Т.А. Исследование производного оксима дибензофуранона (ГИЖ-272) на моделях ишемического и геморрагического повреждения мозга // Тезисы докладов II Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии», Москва. – 2021. – С.120-122.

16. **Литвинова С.А.**, Кутепова И.С., Воронина Т.А. Динамика изменения дельта активности в условиях глобальной ишемии мозга // Тезисы докладов II Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии», Москва. – 2021. – С.124-125.

17. Гайдуков И.О., Воронина Т.А., **Литвинова С.А.** Изучение влияния гиж-298-соединения с противосудорожными свойствами и вальпроевой кислоты на тревожность и когнитивные функции в эксперименте на мышах // Тезисы докладов II Научной

конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии», Москва. – 2021. – С.206-207.

18. Кондрахин Е. А., Литвинова С.А., Ковалев Г.И., Воронина Т.А. Влияние соединения с противосудорожной активностью гиж-298 на плотность D2 и 5HT2A-рецепторов в условиях модели тонико-клонических судорог у мышей // Тезисы докладов II Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии», Москва. – 2021. – С.229-230.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВГТКС	вторично-генерализованные тонико-клонические судороги
ВК	вальпроевая кислота
В/б	внутрибрюшинно
ГАМК	γ-аминомасляная кислота
ГВК	гомованилиновая кислота
ГИ	геморрагический инсульт
ГМЦ	гомоцистеина тиолактон
ГПК	гиппокамп
ГПТ	гипоталамус
ГЭБ	гематознцефалический барьер
ДА	дофамин
ДНК	дезоксирибонуклеино-вая кислота
ДОФУК	3,4-диокси(гидрокси)фенилукусная кислота
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ИИ	ишемический инсульт
ИК	ипсилатеральная кора
ИПГ	интрацеребральная посттравматическая гематома
КК	контрлатеральная кора
КМ	Крушинского-Молодкиной крысы
ЛО	ложнооперированные
ЛП	латентный период
МЭШ	максимальный электрошок
НА	норадреналин
ПЭП	противоэпилептические препараты
ЭпА	эпилептиформная активность
Эпи	эпилептический
ЭЭГ	электроэнцефалограмма