

## ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ОКСИПИРИДИНА НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В ТЕСТЕ «ПРИПОДНЯТЫЙ КРЕСТООБРАЗНЫЙ ЛАБИРИНТ»

Богомолова О.А.<sup>1</sup>, Демидова М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Тверской государственной медицинской университет, Тверь, Россия, e-mail: education@tvgtmu.ru

Эксперименты проведены на 40 белых беспородных крысах обоего пола. Исследовали влияние новых производных 3-оксипиридина ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13, синтезированных в ОАО «ВНЦ БАВ», на поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». В качестве препарата сравнения использовали 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат (мексидол) (50 мг/мл). Установлено, что ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13 в дозах 1/20 LD<sub>50</sub> (670 мг/кг и 520 мг/кг) при однократном внутривнутрибрюшинном введении не влияют на поведение подопытных животных, а при курсовом ежедневном применении в течение месяца повышают вертикальную и горизонтальную двигательные активности, увеличивают время нахождения в открытых рукавах лабиринта, а также число «свешиваний» с них. По влиянию на поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» новые производные 3-оксипиридина превосходят мексидол.

Ключевые слова: 3-оксипиридин, «приподнятый крестообразный лабиринт», крысы

## EFFECTS OF NEW DERIVATIVES OF 3-OXYPYRIDIN ON BEHAVIOR OF RATS IN THE ELEVATED PLUS MAZE (EPM) EXPERIMENTS

Bogomolova O.A.<sup>1</sup>, Demidova M.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tver State Medical University, Tver, Russia, (17000, Tver, e-mail: education@tvgtmu.ru

The experiments were conducted on 40 white non-pedigree male and female rats. Effects of new derivatives of 3-oxypyridin ЛХТ 7-13 and ЛХТ 5-13, synthesized in The All-Russia Scientific Center for Safety Testing of Biologically Active Substances (Ministry of Public Health of the Russian Federation, Staraya Kupavna, Moscow oblast, Russia), on behavior of rats in the EPM were investigated. 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridin succinate (mexidol, 50 mg/ml) was used for comparative analysis. It was found that a single intraperitoneal injection of ЛХТ 7-13 and ЛХТ 5-13 in doses of 1/20 LD<sub>50</sub> (670 mg/kg и 520 mg/kg) did not affect the behavior of the rats, while a one-month injection course (1 injection a day) stimulated their vertical and horizontal activity, increased the proportion of time spent in the open arms and also the proportion of entries into the open arms. Effects of new derivatives of 3-oxypyridin on the behavior of rats in the EPM surpass those of mexidol.

Keywords: 3-oxypyridin, elevated plus maze, EMP, rats

В последние годы в медицинской практике широко применяют производные 3-оксипиридина, в том числе 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат (мексидол), синтезированный Л.Д. Смирновым и К.М. Дюмаевым и изученный в НИИ фармакологии РАМН. Известно, что мексидол наряду с анксиолитическим эффектом оказывает антиалкогольное, противосудорожное, нейропротекторное, ноотропное, противогипоксическое, противопаркинсоническое, вегетотропное действие, кроме того мексидол ингибирует свободнорадикальное окисление липидов биомембран, повышает активность антиоксидантных ферментов, оказывает липидрегулирующее действие, повышая содержание полярных фракций липидов, уменьшая вязкость мембраны и ее текучесть, что способствует сохранению упорядоченной структурно-функциональной организации биомембран. Мексидол разрешен для широкого медицинского применения и проявил эффективность при лечении невротических и неврозоподобных расстройств, различных

нарушений при алкоголизме, в том числе абстинентного синдрома, при лечении острых и хронических нарушений мозгового кровообращения, в том числе инсульта, дисциркуляторной энцефалопатии и вегетососудистой дистонии, при нарушениях функций мозга при старении и атеросклерозе, а также при лечении острой интоксикации нейрорепрессантами [3,4].

Учитывая вышеперечисленное, актуальным является поиск новых лекарственных средств с психотропной активностью среди других производных 3-оксипиридина.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния новых производных 3-оксипиридина на поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

### **Материалы и методы**

Объектами исследования были новые производные 3-оксипиридина с лабораторными шифрами ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13, синтезированные в ОАО «ВНЦ БАВ» (Старая Купавна) профессором д.х.н. Скачиловой С.Я.

Эксперименты выполнены с использованием 40 белых беспородных крыс обоего пола. Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с действующими Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Перед постановкой эксперимента грызуны проходили карантин в течение 10-14 дней.

До начала эксперимента регистрировали исходные характеристики поведения крыс, после чего подопытные животные были разделены на 4 группы. Крысы первой группы получали ЛХТ 7-13 ежедневно внутрибрюшинно в течение месяца в дозе 670 мг/кг (1/20 LD<sub>50</sub>). Подопытные животные второй серии опытов получали ЛХТ 5-13 в дозе 520 мг/кг (1/20 LD<sub>50</sub>) по той же схеме. В качестве препарата сравнения использовали мексидол (50 мг/мл). Животные контрольной группы получали изотонический раствор натрия хлорида.

Влияние новых производных 3-оксипиридина на поведение подопытных крыс оценивали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» [2]. Эксперимент проводили в установке (лабиринте), состоящей из центральной площадки размером 10x10 см, от которой крестообразно расходятся под прямым углом четыре рукава размерами 50x10 см каждый. Два противоположных рукава открытых, без стенок и два закрытых, ограниченных по бокам окрашенными в темный цвет бортами высотой 40 см. Лабиринт приподнят над уровнем пола на 80 см.

Тестирование подопытных животных проводили в первой половине дня с 9:00. За час до тестирования подопытных животных помещали в тихое, слабо освещенное помещение, в подготовительный период с крысами не проводили никаких манипуляций. Крыс помещали на центральную площадку лабиринта мордочкой к открытому рукаву и в течение 5 минут

вели наблюдение за ними. В тесте регистрировали: число заходов в закрытые рукава (ЗР) лабиринта, выходов в открытые рукава (ОР), суммарное время пребывания в закрытых и открытых рукавах, вертикальную активность (число стоек), количество «выглядываний» на открытые рукава и число «свешиваний» с них [6]. Пересечение крысой границ какого-либо отсека задними лапами определялось как заход животного в отсек лабиринта. Возможность оценки влияния препаратов на тревожность подопытных животных в приподнятом крестообразном лабиринте основана на известных сведениях о том, что поведенческой основой избегания у грызунов являются рефлекс предпочтения темного пространства и боязнь высоты [5,7].

Тестирование подопытных крыс в «приподнятом крестообразном лабиринте» осуществляли до начала эксперимента, после однократного введения исследуемых веществ, затем еженедельно в течение месяца.

Результаты исследования обработаны статистически с применением стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2003. Для ряда выборок вычисляли среднюю арифметическую и среднюю квадратическую ошибку. Определение нормальности распределения переменных проводили на основании гистограмм распределения, величины асимметрии и эксцессы. Для оценки достоверности различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента (парный и непарный). За достоверное принимали различие при уровне вероятности 95% и более ( $p < 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

Анализ результатов экспериментального исследования показал, что при однократном внутрибрюшинном введении ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13 достоверно не влияли на поведение крыс в «приподнятом крестообразном лабиринте». Было выявлено, что подопытные животные не совершали выходов в открытые рукава, а число заходов и время пребывания в закрытых рукавах лабиринта подопытных крыс, получавших как ЛХТ 7-13, ЛХТ 5-13, так и раствор мексидола 50 мг/мл достоверно не отличались от их уровня до введения исследуемых соединений и значений соответствующих показателей у животных группы контроля, получавших изотонический раствор натрия хлорида (таблица 1).

**Таблица 1**

Влияние однократного внутрибрюшинного введения производных 3-оксипиридина на число выходов и время пребывания крыс в закрытых рукавах лабиринта

Серия опытов	Число выходов в ЗР	Время пребывания в ЗР, с	Число выходов в ЗР	Время пребывания в ЗР, с
	До опыта		1 день	
ЛХТ 7-13 (670 мг/кг)	2,4 ± 0,9	295,4 ± 1,1	2,3 ± 0,8 <sup>*#</sup>	294,3 ± 1,1 <sup>*#</sup>
ЛХТ 5-13 (520)	2,4 ± 0,9	295,4 ± 1,1	2,2 ± 0,9 <sup>*#</sup>	292,0 ± 2,1 <sup>*#</sup>

мг/кг)				
Мексидол (50 мг/мл)	2,4 ± 0,9	295,4 ± 1,1	2,5 ± 0,7*	293,0 ± 2,1*
Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	2,4 ± 0,9	295,4 ± 1,1	2,4 ± 0,9	295,4 ± 1,1

\* - различия с контролем (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны (p<0,05);

# - различия с препаратом сравнения (раствором мексидола 50 мг/кг) достоверны (p<0,05).

При длительном курсовом применении производных 3-оксипиридина были отмечены существенные изменения в поведении подопытных крыс. Было установлено, что через четыре недели применения производных 3-оксипиридина увеличилось число выходов подопытных крыс в открытые рукава лабиринта. Так, в сериях опытов с введением ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13 значение этого показателя увеличилось соответственно в 4,7 раза (p<0,05) и 3,3 раза (p<0,05) по сравнению с животными группы контроля, получавшими изотонический раствор натрия хлорида. Следует отметить, что мексидол в этом отношении действовал слабее, чем новые производные 3-оксипиридина. У подопытных крыс, получавших мексидол число выходов в открытые рукава лабиринта увеличилось в среднем в 2 раза (p<0,05) по сравнению с контролем, что было соответственно в 2,4 раза (p<0,05) и 1,6 раза (p<0,05) меньше, чем в сериях опытов с введением ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13. В сериях опытов с использованием производных 3-оксипиридина одновременно с увеличением числа выходов в открытые рукава лабиринта возрастало и время нахождения в них подопытных животных. Было отмечено, что крысы, получавшие ЛХТ 7-13, находились в открытых рукавах лабиринта в среднем 40% времени, тогда как интактные животные либо вообще не выходили в светлые рукава лабиринта, либо проводили в них несколько секунд (не более 1% времени нахождения в лабиринте). В сериях опытов с использованием ЛХТ 5-13 и мексидола продолжительность пребывания подопытных животных в светлых рукавах лабиринта составляло соответственно в среднем 22% и 15%. Приведенные данные свидетельствуют о том, что производные 3-оксипиридина эффективно устраняли боязнь светлого и предпочтение темного пространства у грызунов. Наиболее эффективным в этом отношении был ЛХТ 7-13. В сериях опытов с введением ЛХТ 7-13 время нахождения подопытных крыс в открытых рукавах лабиринта было соответственно в 1,8 раза (p<0,05) и в 2,7 раза (p<0,05) больше, чем при применении ЛХТ 5-13 и мексидола (таблица 2).

**Таблица 2**

Влияние производных 3-оксипиридина на число выходов и время пребывания крыс в открытых и закрытых рукавах лабиринта

Серия опытов	Число выходов		
	1 нед	2 нед	4 нед

	ОР	ЗР	ОР	ЗР	ОР	ЗР
ЛХТ 7-13 (670 мг/кг)	1,6 ± 0,4 <sup>*#</sup>	2,4 ± 0,7 <sup>*#</sup>	2,8 ± 0,7 <sup>*#</sup>	2,0 ± 0,8 <sup>*#</sup>	6,6 ± 0,7 <sup>*#</sup>	1,8 ± 0,4 <sup>*#</sup>
ЛХТ 5-13 (520 мг/кг)	1,6 ± 0,9 <sup>*#</sup>	3,6 ± 0,4 <sup>*#</sup>	2,0 ± 0,8 <sup>*#</sup>	3,8 ± 0,6 <sup>*#</sup>	4,6 ± 0,4 <sup>*#</sup>	2,0 ± 0,6 <sup>*#</sup>
Мексидол (50 мг/мл)	1,4 ± 0,2 <sup>*</sup>	4,2 ± 1,6 <sup>*</sup>	2,2 ± 0,6 <sup>*</sup>	4,0 ± 0,5 <sup>*</sup>	2,8 ± 0,2 <sup>*</sup>	2,4 ± 0,7 <sup>*</sup>
Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	1,4 ± 0,8	2,4 ± 0,7	1,6 ± 0,2	2,4 ± 0,7	1,4 ± 0,4	2,4 ± 0,9
<b>Время пребывания, с</b>						
ЛХТ 7-13 (670 мг/кг)	11,0 ± 1,6 <sup>*#</sup>	279,0 ± 2,4 <sup>*#</sup>	18,4 ± 2,7 <sup>*#</sup>	272,0 ± 2,8 <sup>*#</sup>	118,4 ± 1,4 <sup>*#</sup>	138,8 ± 2,8 <sup>*#</sup>
ЛХТ 5-13 (520 мг/кг)	10,8 ± 0,6 <sup>*#</sup>	287,0 ± 3,5 <sup>*#</sup>	14,0 ± 1,8 <sup>*#</sup>	268,2 ± 3,1 <sup>*#</sup>	65,6 ± 1,8 <sup>*#</sup>	180,6 ± 2,4 <sup>*#</sup>
Мексидола (50 мг/мл)	10,4 ± 0,4 <sup>*</sup>	283,6 ± 7,1 <sup>*</sup>	12,8 ± 1,4 <sup>*</sup>	256,0 ± 0,6 <sup>*</sup>	43,6 ± 1,5 <sup>*</sup>	243,8 ± 1,2 <sup>*</sup>
Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	3,5 ± 0,4	293,6 ± 1,6	3,3 ± 0,8	293,2 ± 1,6	3,1 ± 0,9	292,2 ± 0,9

\* - различия с контролем (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны (p<0,05)

# - различия с препаратом сравнения (раствором мексидола 50 мг/кг) достоверны (p<0,05).

Увеличение времени нахождения в открытых рукавах лабиринта у подопытных крыс, получавших производные 3-оксипиридина, сопровождалось повышением частоты «выглядываний» на них. В сериях опытов с введением ЛХТ 7-13, ЛХТ 5-13 и мексидола значение этого показателя увеличивалось соответственно в среднем в 2,2 раза (p<0,05), в 2,3 раза (p<0,05) и в 4,7 раза (p<0,05) (таблица 3).

**Таблица 3**

Влияние производных 3-оксипиридина на число «выглядываний» крыс на открытые рукава лабиринта

Серия опытов	Число выглядываний на открытые рукава лабиринта		
	До опыта	2 недели	4 недели
ЛХТ 7-13 (670 мг/кг)	2,0 ± 0,8	3,8 ± 1,1 <sup>*#</sup>	4,3 ± 0,6 <sup>*#</sup>
ЛХТ 5-13 (520 мг/кг)	2,0 ± 0,8	3,6 ± 1,5 <sup>*#</sup>	4,5 ± 0,4 <sup>*#</sup>
Мексидол (50 мг/мл)	2,0 ± 0,8	5,8 ± 0,7 <sup>*</sup>	9,4 ± 0,9 <sup>*</sup>
Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	2,0 ± 0,8	2,2 ± 0,5	2,2 ± 0,7

\* - различия с контролем (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ( $p < 0,05$ );

# - различия с препаратом сравнения (раствором мексидола 50 мг/кг) достоверны ( $p < 0,05$ ).

Обращает на себя внимание тот факт, что под влиянием производных 3-оксипиридина увеличивались не только горизонтальная двигательная активность и количество «выглядываний» на открытые рукава, но и число «свешиваний» на открытых рукавах (эпизодов, когда животное перегибалось через край открытых рукавов). Под влиянием ЛХТ 7-13, ЛХТ 5-13 и мексидола число «свешиваний» на открытых рукавах на четвертой неделе исследования составило в среднем 5 раз ( $5,2 \pm 0,3$ ), 3 раза ( $3,6 \pm 0,4$ ) и 2 раза ( $2,8 \pm 0,2$ ) соответственно. Приведенные данные подтверждают, что новые производные 3-оксипиридина и мексидол оказывают выраженное противотревожное действие у грызунов.

Одним из регистрируемых параметров в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» является вертикальная двигательная активность. Вертикальная двигательная активность подопытных животных в данном тесте характеризуется двумя видами «вертикальных стоек»: животные встают на задние лапы, а передние лапы упираются в борт лабиринта (climbing) или остаются на весу (rearing). Известно, что по показателю «вертикальные стойки» оценивают мотивационную составляющую ориентировочно-исследовательского поведения подопытных животных. Принимая вертикальное положение, грызуны пытаются войти в непрямой контакт с предметами, расположенными на расстоянии (принюхиваются) [1].

Установлено, что наибольшее изменение вертикальной двигательной активности отмечалось через месяц от начала введения новых производных 3-оксипиридина. В ходе эксперимента было отмечено, что число «вертикальных стоек» у подопытных животных, получавших ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13, было соответственно в среднем в 5,4 раза ( $p < 0,05$ ) и 4,4 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем в начале исследования. Отмечено, что в сериях опытов с введением ЛХТ 7-13 и ЛХТ 5-13 вертикальная двигательная активность подопытных крыс была соответственно в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) выше, чем у подопытных крыс, получавших мексидол (таблица 4).

**Таблица 4**

Влияние производных 3-оксипиридина на число вертикальных стоек у крыс

Серия опытов	Число «вертикальных стоек» (вставаний на задние лапки)				
	До опыта	1 день	1 нед	3 нед	4 нед
ЛХТ 7-13 (670 мг/кг)	$2,8 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,9^{*#}$	$4,0 \pm 0,8^{*#}$	$5,2 \pm 1,2^{*#}$	$15,2 \pm 0,9^{*#}$
ЛХТ 5-13 (520)	$2,8 \pm 0,3$	$2,7 \pm 1,1^{*#}$	$4,2 \pm 1,4^{*#}$	$6,0 \pm 0,4^{*#}$	$12,2 \pm 1,5^{*#}$

мг/кг)					
Мексидол (50 мг/мл)	$2,8 \pm 0,3^*$	$2,7 \pm 1,2^*$	$3,6 \pm 1,2^*$	$6,4 \pm 0,9^*$	$9,0 \pm 1,4^*$
Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	$2,8 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,4$	$2,6 \pm 0,6$

\* - различия с контролем (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ( $p < 0,05$ );

# - различия с препаратом сравнения (раствором мексидола 50 мг/кг) достоверны ( $p < 0,05$ ).

Влияние исследуемых веществ на частоту дефекации (число фекальных болюсов) и груминг (число актов косметического поведения – умывания) у грызунов исследовали для дополнительной оценки уровня их психоэмоционального напряжения в лабиринте. Отмечено, что исследуемые вещества при курсовом применении снижали частоту дефекации и груминг у подопытных животных. Так, частота дефекаций в сериях опытов с введением ЛХТ 7-13, ЛХТ 5-13 и мексидола была соответственно в 2,8 раза ( $p < 0,05$ ), в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) меньше, чем в начале исследования. Число актов груминга в сериях опытов с введением ЛХТ 7-13, ЛХТ 5-13 и мексидола было соответственно в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) меньше, по сравнению с исходным уровнем. Известно, что уменьшение актов груминга и дефекаций может служить косвенным критерием уменьшения тревожности подопытных животных.

Увеличение времени нахождения в открытых рукавах, числа заходов в них, вертикальных стоек и «свешиваний» с открытых рукавов лабиринта свидетельствует о возможном наличии анксиолитического эффекта у исследованных новых производных 3-оксипиридина.

### **Выводы**

1. Новые производные 3-оксипиридина ЛХТ 7-13 (670 мг/кг) и ЛХТ 5-13 (520 мг/кг) при однократном применении не влияли на поведение крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

2. При ежедневном внутрибрюшинном введении в дозе  $1/20 LD_{50}$  в течение месяца ЛХТ 7-13 (670 мг/кг) и ЛХТ 5-13 (520 мг/кг) вызывали повышение вертикальной двигательной активности, увеличивали число выходов и время пребывания подопытных крыс в открытых рукавах лабиринта, а также увеличивали число «свешиваний» на открытых рукавах.

3. Наиболее активным в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» было производное 3-оксипиридина ЛХТ 7-13 (670 мг/кг), которое по влиянию на время нахождения подопытных крыс в открытых рукавах лабиринта превосходило мексидол (50 мг/мл) и ЛХТ 5-13 (520 мг/кг) соответственно в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,8 раза ( $p < 0,05$ ).

## Список литературы

1. Быстрова М.Н. Влияние извлечений седативного сбора на ориентировочно - исследовательское поведение мышей / М.Н. Быстрова, М.А. Демидова, Г.А. Панина, И.С. Жолобов, И.Л. Гальчинская // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №6. – URL: <http://www.science-education.ru/100-5000>.
2. Быстрова М.Н. Исследование влияния различных лекарственных форм успокоительного сбора на поведение мышей в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» / М. Н. Быстрова, М. А. Демидова, И. Л. Гальчинская, И. С. Жолобов // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – №2. – URL: <http://www.science-education.ru/102-5780>.
3. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Ноотропные и нейропротекторные средства // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, №4. – С. 44-58.
4. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Перспектива поиска новых анксиолитиков // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, №5. – С. 4-17.
5. Маркель А.А., Хухайнов Р.А. Метод комплексной регистрации поведенческих и вегетативных реакций у крыс при проведении теста «открытое поле» // Высшая нервная деятельность. – 1976. – №6. – С. 1314-1318.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией чл.-корр. РАМН Р. У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
7. Sendrowski K., Bockowski L., Sobaniec W., et al. Levetiracetam protects hippocampal neurons in culture against hypoxia-induced injury // Folia Histochem Cytobiol. – 2011. – Vol. 49 (1). – P. 148-152.

### Рецензенты:

Марасанов С.Б., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ГБОУ ВПО Тверского государственного медицинского университета, г. Тверь;

Слюсарь Н.Н., д.м.н., профессор, руководитель клинико-биохимической лаборатории профессора Н.Н. Слюсаря, г. Тверь.