

ISSN 2077-8333 (print)
ISSN 2311-4088 (online)

ЭПИЛЕПСИЯ и пароксизмальные состояния

2018 Том 10 №4



EPILEPSY AND PAROXYZMAL CONDITIONS

2018 Vol. 10 №4

www.epilepsia.su

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта www.epilepsia.su. Не предназначено для использования в коммерческих целях. Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (485) 646-94-95, эл. почта: info@irbis-1.ru. Copyright © 2018 Издательство ИРБИС. Все права охраняются.

Исследование и разработка наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината для лечения эпилепсии

Авакян Г.Г.¹, Воронина Т.А.², Неробкова Л.Н.², Авакян Г.Н.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Островитянов, д. 1, Москва 117997, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «НИИ Формологии им. В.В. Зкусова» (ул. Блтийская, д. 8, Москва 125315, Россия)

Для контактов: Авакян Георгий Гагикович, e-mail: avakyan_georgy@mail.ru.

Резюме

Цель – создание противосудорожного средства для профилактики и лечения эпилепсии на основе полимерных наночастиц с 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинатом, который облегчает транспорт препарата через гематоэнцефалический барьер и целенаправленно воздействует на органы-мишени. **Материалы и методы.** Разработан нанопрепарат с использованием биологически активного вещества 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината и полибутилцианоакрилатных (ПБЦА) наночастиц. Преимущества наноформы препарата перед 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинатом в субстанции изучались на экспериментальных моделях: тесте максимального электрошока (МЭШ); тесте антагонизма с коразолом; модели с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом и вторично-генерализованными судорогами; модели эпилептического статуса. **Результаты.** Выявлены противосудорожные эффекты наноформы препарата на экспериментальных моделях эпилепсии. **Заключение.** Наноформа препарата в 7,8 раз уменьшает число вторично-генерализованных клонико-тонических приступов (ВГКТП); в 10 раз снижает процент погибших животных и ослабляет моторные судорожные проявления, возникающие при эпилептическом статусе в межприступном периоде.

Ключевые слова

Эпилепсия, противосудорожные препараты, наномедицина, нанотехнология, нанопрепарат, полибутилцианоакрилатные наночастицы.

Статья поступила: 11.09.2018 г.; в доработанном виде: 23.11.2018 г.; принята к печати: 20.12.2018 г.

Представление на ученом мероприятии

Данный материал был представлен на IX Международном Форуме эпилептологов стран СНГ/ЕвразЭс «Эпилепсия и Пароксизмальные состояния» (26-27 октября 2018 г., г. Ростов-на-Дону, Россия).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в отношении данной публикации.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования

Авакян Г.Г., Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Авакян Г.Н. Исследование и разработка наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината для лечения эпилепсии. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2018; 10 (4): 026-038. DOI: 10.17749/2077-8333.2018.10.4.026-038.

Research and development of 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate nano-form for the treatment of epilepsy

Avakyan G. G.¹, Voronina T. A.², Nerobkova L. N.², Avakyan G. N.¹

¹ Pirogov Russian National Research Medical University (1 Ostrovityanova Str., Moscow 117997, Russia)

² Zakusov Institute of Pharmacology (8 Baltijskaja Str., Moscow 125315, Russia)

Corresponding author: Georgiy G. Avakyan, e-mail: avakyan_georgiy@mail.ru.

Summary

*The aim is to develop an antiepileptic drug based on polymer nanoparticles with 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate to facilitate the drug transport through the blood-brain barrier. **Materials and methods.** The nano-drug was created using the biologically active substance 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate and polybutyl cyanoacrylate (PBCA) nanoparticles. The advantages of this nano-form over the active ingredient of the same drug were studied using experimental models: the maximum electroshock test (MES), the antagonism test with corazol, models with a cobalt-induced epileptic focus and secondary generalized convulsions, and models of status epilepticus. **Results.** The anti-seizure effects of the nanoform on the experimental models of epilepsy are identified. **Conclusion.** The nano-drug reduces the number of secondary generalized clonic-tonic seizures by 7.8 times; it also reduces 10-fold the animal mortality and diminishes the seizure manifestations that occur in the interictal period of the epileptic status.*

Key words

Epilepsy, antiepileptic drugs, nano-medicine, nano-technology, nano-preparation, polybutylcyanoacrylate nanoparticles.

Received: 11.09.2018; **in the revised form:** 23.11.2018; **accepted:** 20.12.2018.

Meeting Presentation

This paper was presented at the IX International Forum of Epileptologists CIS/ EurAsEC "Epilepsy and Paroxysmal Conditions" (26-27 October 2018, Rostov-on-Don, Russia).

Conflict of interests

The authors declare about the absence of conflict of interest with respect to this publication.

Authors contributed equally to this article.

For citation

Avakyan G. G., Voronina T. A., Nerobkova L. N., Avakyan G. N. Research and development of 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate nano form for the treatment of epilepsy. *Epilepsiya i paroksizmal'nye sostoyaniya / Epilepsy and paroxysmal conditions.* 2018; 10 (4): 026-038 (in Russian). DOI: 10.17749/2077-8333.2018.10.4.026-038.

Введение / Introduction

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в лечении эпилепсии в последние годы, не менее чем у 30% пациентов не удается добиться полного прекращения приступов: они остаются «резистентными» к проводимой противоэpileптической терапии [1]. Для преодоления форм резистентности необходимо применение новейших технологий и противоэpileптических препаратов (ПЭП) с возможностями воздействия на новые патогенетические звенья – «мишени» эpileптической системы.

Достижения науки создали предпосылки для появления нового перспективного направления, определяемого термином «нанотехнологии». В ретроспективе проводятся доклинические и клинические исследования различных наноструктур и наночастиц и нанопосудков в качестве переносчиков, помогающих проникнуть через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) лекарственным формам, используемым для лечения различных заболеваний, особенно активно при эpileпсии, болезни Альцгеймера, онкологических заболеваниях, болевых синдромах [2,3].

2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат широко применяется в медицинской практике России в качестве противоишемического, нейропротекторного, противосудорожного, ноотропного, оксидолитического средств. 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат является ингибитором свободнорадикальных процессов, способствует снижению уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), повышению активности эндогенной антиоксидантной системы, стабилизирует биологические мембраны, вызывает конформационные изменения в протеиновых компонентах мембраны и модулирует функционирование бензодиазепинового и ГАМК-рецепторов [4].

Ранее в эксперименте было установлено, что 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субтерапевтических дозах обладает способностью ослаблять судороги, вызванные введением корзол, бемеград, бикакуллин, тиосемидозид, пикротоксин и проведением массивного электрошока. Под влиянием 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината наблюдается уменьшение числа животных с судорожными припадками, увеличиваясь длительность вре-

мая и ступления судорог и снижается длительность судорожного припадков [5].

На модели прерывистой эпилепсии установлено, что вступившие в реакцию с 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцином уменьшаются длительность приступов [6]. Действие производных 3-оксипиридина реализуется в детерминистических очагах – в лимбико-гипоталамических структурах; в дуотерпине они потенцируют противосудорожный эффект ПЭП. Производные 3-оксипиридина влияют на характер эпилептической активности (ЭПА); активизируют ГАМК-системы; снижают повышенный при судорогах уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в коре мозга; ингибируют, ПОЛ в мембранах клеток снижают повышенный уровень NO в коре мозга и предотвращают NO-генерацию при судорогах и ишемии [7].

Вместе с тем 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат уступает по противосудорожной активности традиционным, современным противосудорожным препаратам, таким как вальпроаты и карбамазепин. В сравнении с другими противосудорожными препаратами 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат не обладает значимой активностью при эпилептическом статусе [5,6]. Кроме того, при повышении доз 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината могут возникнуть побочные эффекты с нарушением моторных функций [6-8].

Преимуществами инновационных препаратов являются: снижение действующих доз и повышение эффективности препарата; обеспечение прохождения через ГЭБ; целенаправленный транспорт в очаг; снижение побочных эффектов и токсичности препарата; улучшение фармакокинетики и фармакодинамики [2,9-11]. Поэтому большой научный и практический интерес представляет разработка инновационных форм 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината.

Цель исследования – создание противосудорожного средства для профилактики и лечения эпилепсии на основе полимерных наночастиц с 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинатом, которые облегчают транспорт препарата через гематоэнцефалический барьер для целенаправленного воздействия на ЦНС.

Материалы и методы / Materials and Methods

Разработаны инновационные препараты с использованием биологически активного вещества 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат и полибутилцитратных (ПБЦА) наночастиц и форм цветически приемлемых вспомогательных веществ (с лецитином с добавлением твин). Полимерные носители меняют фармакокинетику в кровотоке и распределение биологически активных соединений с обеспечением целенаправленного транспорта в головной мозг [8-10].

В настоящее время существует значительное количество работ, посвященных разработке и фарма-

кологическому изучению инновационных форм лекарственных веществ [12-16]. Известен способ получения инновационной формы лекарственного вещества (ЛВ), где в качестве полимерного носителя использовались поли(бутилцитрат)ные наночастицы, полученные методом эмульсионной полимеризации мономера [13]. Недостатком способа – лекарственное вещество вводилось после начальной полимеризации, что увеличивало долю ЛВ, сорбированного на поверхности частиц, не внутри. Если же активное вещество вводить до начальной полимеризации, то в водной среде лекарственное вещество иницирует полимеризацию мономера и образуются наночастицы. Однако это может привести к неконтролируемому образованию полимерной массы: к потерям по мере распада носителя, так и ЛВ; полимеризация проходит слишком быстро, и вместо тонкой наносспензии образуется грубый осадок [14,15].

Опытным путем установлено, что введение 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината до начальной полимеризации (введения мономера в кислую водную среду) не препятствует проведению контролируемой полимеризации и способствует сорбции данного соединения по всему объему частиц, не только по поверхности. Используемая инновационная форма, содержащая в качестве биологически активного вещества 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат, сорбированный на полимерном носителе, в качестве которого используются полибутилцитратные (ПБЦА), наночастицы и форм цветически приемлемые вспомогательные вещества, в частности лецитин с добавлением твин, лишен недостатков прототипа; размер используемых наночастиц при этом не превышает 1000 нм.

Изучены преимущества инновационной формы препарата перед 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинатом в субстанции на экспериментальных моделях: тесте мксимального электрошока (МЭШ); тесте на гипоксию с корзолем; у крыс с кобальт-индуцированными эпилептогенным очагом и вторично-генерализованными судорогами; эпилептического статуса и в межприступном периоде при эпилептическом статусе, также изучены побочные нейротоксические эффекты 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината на наночастицах. Дизайн экспериментального исследования представлен на **рисунке 1**.

Тест МЭШ

Тест МЭШ – базисный методик оценки действия веществ с противосудорожной активностью [8,9]. Электрическим воздействием моделируются первично-генерализованные судороги, «большие» (Grand mal) судорожные припадки. Исследование 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината на наночастицах проводили в опытах на белых беспородных мышей с массой тела 20-26 г. МЭШ создавали путем проведения через корневые электроды электрических стимулов (50 Hz, 50mA длительностью 0,2 сек.).

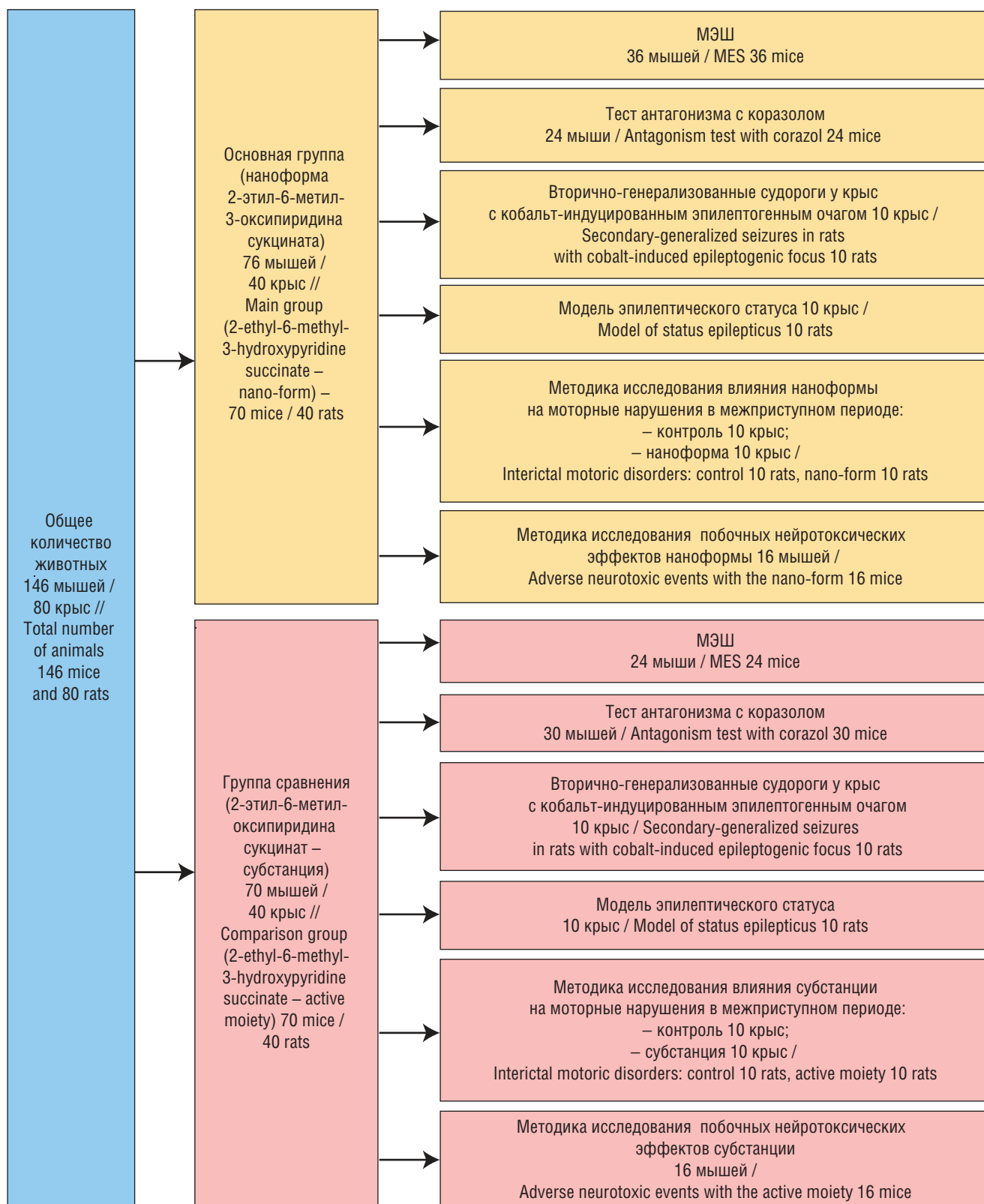


Рисунок 1. Дизайн экспериментального исследования.

Примечание. Компьютеризированные ЭЭГ-исследования влияния наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината и субстанции проводились у крыс с кобальт-индуцированным эпилептическим очагом на второй генерализованной стадии формирования эпилептической системы и моделях эписатуса (см. методики).

Figure 1. Study design.

Note. Computerized EEG studies on the 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (nano-form and active moiety) effect were carried out in rats with cobalt-induced epileptic focus at the second generalized stage of the formation of the epileptic system and models of the epileptic status (see techniques).

После проведения МЭШ у всех мышей возникнет тоническая экстензия задних и передних конечностей и затем клонические судороги и гибель животных. Противосудорожный эффект веществ оценивали по его способности предупредить тоническую экстензию и гибель животных в процентном выражении. Методом пробит-анализа (Litchfield J.T., Wilcoxon F.H. (1949) [10]) рассчитывали эффективную дозу (ЭД50) – дозу, при введении которой противосудорожный эффект наблюдался у 50% животных и ЭД16 – дозу, при введении которой противосудорожный эффект наблюдался у 16% животных. В качестве препарата использовали 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции. Исследуемые вещества вводили внутривентрикулярно за 30 мин. до начала эксперимента.

Тест на тонизм с кор золом

Тест на тонизм с кор золом, как и тест миксимального электрошока, является базисной методикой при оценке действия веществ с противосудорожной активностью [8,9]. Судороги вызываются химическим воздействием и моделируют первично-генерализованные судороги так называемых «малых» (Petit mal) судорожных припадков в виде клонических судорог. Исследования 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинатом в течение 60 мин. в тесте на тонизм с кор золом проводили в опытах на белых беспородных мышей 20-26 г. Кор зол в дозе, вызывающей судороги у 97% животных (ЭД97), вводили подкожно в область шейного отдела спины. На первом этапе определяли кривую зависимости «доза – эффект для кор золом». Животных блюдили в течение 60 мин. после инъекции кор золом и регистрировали процент животных с наличием генерализованных клонических судорог с утратой рефлексивной реакции. На основе полученных данных рассчитывали методом пробит-анализа [10] дозу кор золом, вызывающую судороги у 97% животных (ЭД97). Для определения противосудорожной активности 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинатом кор золом в дозе ЭД97 вводили подкожно через 30 мин. после 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинатом (на пике миксимального эффекта 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинатом) и затем осуществляли регистрацию судорог в течение 60 мин. отдельно у каждого животного. Животных, у которых не наблюдалось (после введения веществ и затем кор золом) в течение 60 мин. повторяющихся клонических судорог передних и/или задних конечностей длительностью более чем 3 сек. без потери и с потерей рефлексивной реакции, тонические судороги и гибель, считали защищенными. Регистрировали число генерализованных клонических судорог с утратой рефлексивной реакции в среднем у животного, латентное время 1-го генерализованного приступа и процент выживших животных у которых не наблюдался защитный противо-

судорожный эффект 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинатом, вводимого в различных дозах. На основе полученных данных методом пробит-анализа рассчитывали ЭД50 – дозу, при введении которой противосудорожный эффект наблюдался у 50% животных и ЭД16 – дозу, при введении которой противосудорожный эффект наблюдался у 16% животных. В качестве препарата использовали 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции. Исследуемые вещества вводили внутривентрикулярно за 30 мин. до начала эксперимента.

Вторично-генерализованные судороги у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом

Эпилептогенный очаг создавался аппликацией порошка метилсалицилового кобальта на поверхность двигательной области (сенсомоторной) коры левого полушария мозга крыс [8,11]. В кости черепа в состоянии 1,2 мм вперед от брегмы и 1,5 мм в сторону от сагиттальной линии просверливали отверстие, в которое вводили порошок кобальта. Операцию проводили в условиях анестезии под внутримышечным наркозом (40 мг/кг, внутримышечно). Кости черепа закрепляли на поверхности черепа при помощи висмут-цемента. Одновременно в мозг крысы вживляли электроды, изготовленные из нихромовой проволоки (диаметром 90-120 мкм), в латексной изоляции для регистрации электрограмм. Концы электродов припаяли к посеребренным штырькам, которые закрепляли в кости черепа, также к кости черепа. Электроды вживляли в ипсилотермальную и контралатеральную (по отношению к очагу) зону сенсомоторной коры и структуры лимбико-гипоталамического комплекса (гиппокамп и гипоталамус). Индифферентный электрод вживляли в носовую кость черепа.

Биоэлектрическую активность исследуемых структур регистрировали у свободно передвигающихся животных ежедневно, начиная со 2-го дня после аппликации кобальта. Формирующийся эпилептогенный очаг является источником развития динамической постоянно усложняющейся структурно-функциональной системы.

В развитии эпилептической активности (ЭПА) в электрограммах мозга контрольных крыс с кобальтовым эпилептогенным очагом в сенсомоторной области коры можно выделить три стадии: 1-й этап – начало развития ЭПА с наличием пароксизмальных приступов в электрограммах коры ипсилотермальной полушария и значительно меньшей выраженностью ее в других отделах (24-48 ч после аппликации кобальта); 2-й этап – наличие вторичных генерализованных эпилептиформных приступов к контралатеральной полушарии, также в подкорковых структурах (5-7 сут.), 3-й этап – уменьшение эпилептических приступов в кортикальных первичного (истинного) очага и сохранность их в электрограммах зеркального очага и подкорковых структур (14 сут).

Таблица 1. Влияние наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на судороги, вызванные максимальным электрошоком (МЭШ).

Table 1. Effect of the 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate nano-form on seizures caused by maximum electroshock (MES).

Преп р т / воздействие // Drug / Effect	Доз мг/кг, в/б // Dose mg/kg, i/p	Процент мышей с тоническими судорог ми / Mice with tonic seizures, %	Процент выживших мышей / Mice survived, %	ЭД ₁₆ / ED ₁₆	ЭД ₅₀ / ED ₅₀
МЭШ / MES	–	100 (10/10)	0		
2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т Субст нция + МЭШ / 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxy-pyridine succinate active moiety + MES	100 200 300	100 (8/8) 75,0 (6/8) 37,5 (3/8)	12,5(1/8) 37,5 (3/8) 75 (6/8)	120,30 (100,25÷144,96)	229,72 (191,0÷294,97)
2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т-PLGA-лецитин-твин + МЭШ / 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate-PLGA-lecitine-twin + MES	12,8 27,0 64,0 112,8	100 (6/6) 80,0 (8/10) 80,0 (8/10) 60,0 (6/10)	33,3 (2/6) 20,0 (2/10) 30,0 (3/10) 70,0 (7/10)	24,14 (20,11÷28,96)	85,11 (70,92÷102,13)

Примечание. Здесь и в таблице 2: ЭД₁₆ – Доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 16% мышей, ЭД₅₀ – доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 50% мышей.

Note. Here and in Table 2: ED₁₆ – the dose at which the prevention of seizures and the death of 16% of mice is observed, ED₅₀ – the dose at which the prevention of seizures and the death of 50% of mice is observed.

Модель эпилептического ст тус

Эксперименты проводили н белых беспородных крыс х-с мц х м ссой тел 220-250 г с хронически живленными электрод ми и коб льт-индуциро- в нным эпилептогенным оч гом в сенсомоторной обл сти коры. Эпилептогенный оч г созд в ли по методике, опис нной выше. Н чин я с 4-го дня после пплик ции коб льт ежедневно проводили ЭЭГ-мониторинг. Н 7-8-й день после пплик ции коб льт , ког д у всех крыс отмеч лись стойкие изменения электрической ктивности, клонические подергив ния передних л п или головы, проводили провок цию эпилептического ст тус по методике, опис нной р нее [8,11].

Эпилептический ст тус вызыв ли внутримышеч- ным введением тиол ктон гомоцистеин (DL-homocysteine thiolactone, НСТ) в дозе 5,5 ммоль/кг, р зводимого в 3,5 мл/кг норм льного физиологиче- ского р створ непосредственно перед использо- ванием. Мониториров ние электрической ктивности проводили ср зу после инъекции НСТ и до конц эксперимент , что позволяет определить точное время н ступления вторично генер лизов нных клонико-тонических приступов (ВГКТП) и опреде- лить временные интерв лы между последов тель- ными приступ ми. Для оценки способности веществ устр нять р звившийся ст тус исследуемые веще- ств вводили з 15 мин. до введения нейротоксин (ср зу после регистр ции фоновой ктивности).

Введение преп р тов при моделиров нии вторич- но-генер лизов нных судорог и эпист тус

Н ноформу 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сук- цин т вводили внутривентриально в дозе 44 мг/кг. В к качестве преп р т ср внения использо- вали суб- ст нцию 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в дозе 100 мг/кг внутривентриально. Исследуемые ве- ществ вводили однокр тно, через 15 мин. после н - ч л регистр ции ЭЭГ. Регистр цию вторично гене- р лизов нной ЭпА проводили в течение ч с после введения веществ. Биоэлектрическую ктивность мозг крыс регистриров ли в течение 15 мин до (фо- нов я регистр ция) и в течение 2 ч после введения нейротоксин . Контрольной группе животных в те же сроки вводили физиологический р створ в р вных объем х. Способность веществ устр нять эпилепти- ческий ст тус оценив ли по уменьшению числ ВГКТП и л тентного времени н ступления ВГКТП, в межприступный период оценив ли моторные проявления судорог, х р ктеризующиеся комплекс- ными подергив ниями и «б р б нным боем». Кроме того, регистриров ли гибель животных.

Исследов ние побочных нейротоксических эф- фектов н ноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т

Оценку нейротоксичности (ухудшение моторной функции) проводили у мышей по н рушению коор- дин ции движений в тесте вр щ ющегося стержня

Таблица 2. Влияние наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината и 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в субстанции на генерализованные клонические судороги и гибель животных, вызванные коразолом (105 мг/кг, подкожно).

Table 2. Effect of the 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate nano-form and 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate active moiety on corazol-induced generalized clonic seizures and death of the animals (105 mg/kg, subcutaneously).

Препарат / Drug	Доза, мг/кг // Dose, mg/kg	Число судорог у одного животного / Number of seizures per animal	Латентное время до первого приступа, мин. / Latent period prior to first seizure, min	Процент выживших мышей / Mice survived, %	ЭД ₁₆ / ED ₁₆	ЭД ₅₀ / ED ₅₀
Коразол (контроль) / Corazol (Control)	105	1,50±0,22	5,30±0,70	10 (1/10)		
2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат субстанции+ коразол / 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate active moiety + corazol	120 160 200	2,20±0,26 1,90±0,27 1,80±0,20	9,13±2,10 10,30±2,90 9,10±2,10*	30 (3/10) 50 (5/10) 80 (8/10)	ЭД ₁₆ – 89,5 (74,50÷107,40)	ЭД ₅₀ – 166,81 (139,10÷200,20)
2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат-PLGA-лецитин-твин+ коразол / 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate- PLGA-lecithine-twin + corazol	64 96 112 128	1,30±0,20 1,10±0,16 1,00±0,25 2,50±0,34*	7,20±0,60 10,70±1,10* 10,10±2,30* 19,80±2,70*	16,6 (1/6) 33,3 (2/6) 50,0 (3/6) 66,6 (4/6)	ЭД ₁₆ – 65,51 (54,59÷78,61)	ЭД ₅₀ – 110,90 (92,38÷133,03)

* $P < 0,05$ в сравнении с контролем.

* $P < 0,05$ compared to control.

[8]. Использовали стержень диаметром 2,5 см и скоростью вращения 6 об./мин. Животных помещали на вращающийся стержень и они, перебирая лапы, удерживались на нем. Неспособность животных удерживаться на вращающемся стержне в течение 1 мин. хотя бы один раз из трех попыток учитывалась как потеря равновесия и координации движений, и признаки пошатывания, падения, мышечного тонуса. Исследовали несколько доз наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат и 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции. Значимые различия в латентном времени до первого приступа судорог (Litchfield, Wilcoxon) рассчитывали с помощью ТД₅₀ – дозы, оказывающей нейротоксическое действие у 50%.

Организация и проведение экспериментальных работ осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России №199 от 01 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Звездиной».

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Excel 2016 и Stat Plus 2008 (Analyst Soft Inc.). Использовали параметрические критерии оценки Стьюдента. На основании полученных данных методом пробит-

анализ (Litchfield, Wilcoxon) рассчитывали ЭД₅₀ – дозу, при введении которой противосудорожный эффект наблюдался у 50% животных и ЭД₁₆ – дозу, при введении которой противосудорожный эффект наблюдался у 16% животных и ТД₅₀ – дозу, оказывающую нейротоксическое действие на животных.

Результаты / Results

Противосудорожное действие наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат на судороги, вызванные МЭШ

Установлено, что наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат предупреждает развитие тонической экстензии, так и гибель крыс, вызванную проведением МЭШ (табл. 1).

Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат зависит от дозы препарата и усиливается с ее повышением. В максимальной дозе 12,8 мг/кг наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат устраняет гибель 16% мышей, в дозе 27 мг/кг – 20%, в дозе 64 мг/кг – 40% и в дозе 112 мг/кг – 70% мышей.

Доза, при которой наблюдалось предупреждение судорог и гибель 16% мышей (ЭД₁₆) составляет для наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукци-

Таблица 3. Влияние наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на вторично-генерализованную эпилептиформную активность у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом на второй генерализованной стадии формирования эпилептической системы.

Table 3. Effect of the 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate nano-form on secondary-generalized epileptiform activity in rats with cobalt-induced epileptogenic focus at the second generalized stage of the epileptic system formation.

Параметр / Parameter	Контроль (до введения вещества) / Base line (before drug injection)	Наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат, 44 мг/кг // 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate nano-form, 44 mg/kg	2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции, 100 мг/кг // 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate active moiety, 100 mg/kg
Число приступов в минуту / Number of discharges per min	17,1± 4,95	5,5±0,57*	13,6±3,12
Длительность приступов в минуту / Duration of discharges for 1 min	2,75±0,55	3,04±0,08	2,2±0,47
Длительность одного приступа / Duration of a single discharge	0,74±0,025	0,76±0,03	0,62±0,04

* $P < 0,01$ по сравнению с контролем.

* $P < 0,05$ compared to control.

и 24,14 (20,11÷28,96) мг/кг, доз, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 50% мышей (ED_{50}) – 85,11 (70,92÷102,13) мг/кг (см. табл. 1).

По противосудорожной активности в тесте МЭШ наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината значительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции. Доз, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 16% мышей (ED_{16}) составляет для 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината в субстанции 120,3 (100,25÷144,96) мг/кг, доз, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 50% мышей (ED_{50}) – 229,72 (191,02÷294,97) мг/кг (см. табл. 1).

Таким образом, наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината обладает выраженным противосудорожным действием, предупреждая развитие тонической экстензии, тем самым предотвращая гибель животных, вызванную МЭШ. Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината является дозозависимым и увеличивается с повышением дозы. По противосудорожной активности в тесте МЭШ наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината значительно (в несколько раз) превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции: по параметру ED_{50} – в 2,7 раз, по параметру ED_{16} – в 5 раз.

Противосудорожное действие наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината и судороги, вызванные корзолом

Установлено, что у контрольных животных после введения корзола в дозе 90 мг/кг генерализованные

клонические судороги и гибель животных у 50% мышей, в дозе 100 мг/кг – у 70% мышей и в дозе 105 мг/кг – у 90% мышей.

Рассчитаны дозы корзола, при введении которых судороги и гибель животных у 97% животных (ED_{97}), составляет 105 мг/кг. У контрольных животных после введения корзола в дозе ED_{97} судорожные проявления проявлялись в следующей последовательности: 1 – одно или более миоклонических подергиваний всего тела; 2 – повторяющиеся клонические судороги передних и/или задних конечностей длительностью более чем 3 сек. без потери рефлексивности; 3 – генерализованные клонические судороги передних и задних конечностей с утратой рефлексивности; 4 – тоническая экстензия передних конечностей с потерей рефлексивности; 5 – тоническая экстензия передних и задних конечностей с утратой рефлексивности; 6 – гибель животных. Основным параметром при оценке противосудорожного эффекта препарата является предупреждение генерализованных клонических судорог передних и задних конечностей с утратой рефлексивности и предупреждение гибели животных, что и оценивалось в настоящем исследовании.

Установлено, что наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината предупреждает развитие генерализованных клонических судорог, тем самым предотвращая гибель животных, вызванную введением корзола (табл. 2).

Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината зависит от дозы препарата и усиливается с ее повышением. В дозе 64 мг/кг наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин

Таблица 4. Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината при эпилептическом статусе.

Table 4. Anti-seizure effect of the 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate nano-form on the animals in the epileptic status.

Веществ / Compound	Доз в/б, мг/кг // Dose i.p., mg/kg	Число ВГКТП з 2 ч / Number of SGCTS per 2 h	Животные с ВГКТП / Animals with SGCTS, %	Погибшие Животные / Animals died, %
Контроль / Control	–	3,90±0,24	100	100
2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции / 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate active moiety	100,0	2,40±0,12	80	80
2-Наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат / 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate nano-form	44,0	0,50±0,03*	30*	10*

Примечание. ВГКТП – вторично-генерализованные клонико-тонические приступы; *P<0,01 по сравнению с контролем.

Note. SGCTS – secondary generalized clonic-tonic seizures; *P<0.01 compared to control.

сукцинат устраняет судороги и гибель 16% мышей, в дозе 96 мг/кг – 33%, в дозе 112 мг/кг – 50% и в дозе 128 мг/кг – 66,6% мышей. Наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат достоверно увеличивает время наступления первого генерализованного приступа: в дозе 96 мг/кг – в 2 р з, в дозе 128 мг/кг – в 3,7 р з.

Доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибели 16% мышей ($ЭD_{16}$), составляет для наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат 65,51 (54,59÷78,61) мг/кг, доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 50% мышей ($ЭD_{50}$) – 110,80 (92,38÷133,03) мг/кг (см. табл. 2).

По противосудорожной активности в тесте на гонимизм с кор золотом наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат значительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции. Доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибели 16% мышей ($ЭD_{16}$), составляет для 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции 89,5 (74,58÷107,4) мг/кг, доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 50% мышей ($ЭD_{50}$) – 166,81 (139,08÷200,17) мг/кг (см. табл. 2). Следовательно, наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат по противосудорожной активности в тесте на гонимизм с кор золотом превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции по показателю $ЭD_{50}$ в 1,4 р з, по показателю $ЭD_{16}$ – в 1,5 р з. В ряду с этим 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции достоверно повышает латентное время наступления первого приступа только в дозе 200 мг/кг, тогда как наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат достоверно увеличивает время наступления первого приступа в дозе 96 мг/кг.

Таким образом, наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат обладает выраженной

противосудорожным действием в тесте на гонимизм с кор золотом, увеличивая время наступления первого генерализованного приступа и предупреждая развитие генерализованных клонических судорог и гибель животных. Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат является дозозависимым и увеличивается с повышением дозы. По противосудорожной активности в тесте на гонимизм с кор золотом наноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат значительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции.

Противосудорожное действие наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат на вторично-генерализованные судороги у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом

Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат оценивали по способности вещества ослаблять вторично-генерализованные судороги у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом на второй стадии формирования эпилептической системы на 7-й день после пепликации кобальта. Эта стадия характеризуется наличием вторичной генерализованной эпилептиформной активности (ЭПА) в различных структурах мозга со средним уровнем синхронизированных пароксизмальных рзрядов. Регистрировали число вторично-генерализованных эпилептиформных рзрядов (отдельных пароксизмов) за минуту, длительность рзрядов за минуту и длительность одного рзряда в электрограммах зеркального (контралateralного) очага и подкорковых структур (дорзальный гиппокампилateralный гипоталамус).

Наноформу 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат вводили внутривенно в дозе 44 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали суб-

Таблица 5. Влияние наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на моторные нарушения (приступы по типу «барабанного боя»), возникающие в межприступный период при эпилептическом статусе.

Table 5. Effect of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate nano-form on motoric disorders (“drumbeat” type) arising in the interictal period of the epileptic status.

Вещество / Compound	Латентное время наступления приступов по типу «барабанного боя», мин. / Latent period prior to “drumbeat” attack, min	Число приступов по типу «барабанного боя» / Number of “drumbeat” attacks
Контроль (НСТ) / Control (HCT)	1060,00±181,17	4,10±0,38
2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат (субстанция), 100 мг/кг // 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate active moiety, 100 mg/kg	1659,25±231,14	2,75±0,25
Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат 44 мг/кг // 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate nano-form, 44 mg/kg	2972,67±299,23*	2,00±0,37*

* $P < 0,01$ по сравнению с контролем.

* $P < 0.01$ compared to control.

стацию 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в дозе 100 мг/кг внутривенно. Исследуемые вещества вводили однократно, через 15 мин. после регистрации ЭЭГ.

Регистрацию вторичной генерализованной эпилептиформной активности проводили в течение часа после введения веществ.

Установлено, что наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в дозе 44 мг/кг обладает вырженной способностью ослаблять вторично-генерализованные судороги у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом в второй стадии формирования эпилептической системы (наличие стабильной генерализованной эпилептиформной активности в различных структурах мозга). Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат достоверно в 3 раза уменьшила число судорожных приступов (см. табл. 3).

2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции не обладает достоверными противосудорожными эффектами в данной модели и существенно уступил по активности наноформе 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат (см. табл. 3).

Таким образом, 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в наночастицах (PLGA-лецитин) с твином обладает вырженной способностью достоверно в 3 раза уменьшить число судорожных приступов в модели преральной эпилепсии у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом с вторично-генерализованными судорогами. 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции не обладает достоверным эффектом в данной модели.

Противосудорожное действие наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат при эпилептическом статусе

Установлено, что наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в дозе 44 мг/кг существенно

(в 7,8 раз) и достоверно уменьшает число вторично-генерализованных клонико-тонических приступов (ВГКТП), уменьшает в 3 раза долю животных с ВГКТП и в 10 раз снижает долю погибших животных (табл. 4). 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции в дозе 100 мг/кг достоверно уменьшает число вторично-генерализованных клонико-тонических приступов (ВГКТП) и практически не влияет на долю животных с ВГКТП и долю погибших животных (см. табл. 4).

Таким образом, наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат значительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции по противосудорожной активности в тесте эпилептического статуса.

Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в дозе 44 мг/кг оказывает вырженное влияние на моторные судорожные проявления, возникающие при эпилептическом статусе в межприступный период и характеризующиеся комплексными подергиваниями и «барабанным боем». Под влиянием наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат достоверно в 1,5 раза уменьшается число судорожных приступов по типу «барабанного боя» и в 2,8 раза увеличивается латентное время наступления этих моторных судорожных проявлений (табл. 5).

Влияние на моторные нарушения в межприступном периоде

2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции в дозе 100 мг/кг не оказывает существенного влияния на межприступные моторные судорожные проявления при эпилептическом статусе, характеризующиеся комплексными подергиваниями и «барабанным боем» и, таким образом, значительно уступил по активности наноформе 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат (см. табл. 5).

Таким образом, при эпилептическом статусе, вызванном введением нейротоксина тиолхтонгомо-

цистеин крыс м с коб льтовой эпилепсией, н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т достоверно в 7,8 р з уменьш ет число вторично-генер лизов нных клонико-тонических приступов (ВГКТП); в 3 р з уменьш ет долю животных с ВГКТП; сниж ет в 10 р з долю погибших животных и осл бляет моторные судорожные проявления, возник ющие при эпилептическом ст тусе в межприступный период, что х р ктеризуется достоверным уменьшением в 1,5 р з числ судорожных приступов по типу «б р б нного боя» и увеличением в 2,8 р з л тентного времени н ступления моторных судорожных проявлений.

Побочные нейротоксические эффекты н ноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т и 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в субст нции

По методике определения побочных нейротоксических эффектов уст новлено, что контрольные мыши удержив ются н вр щ ющемся стержне по несколько минут и у них не н блюдет ся н рушения походки, поз, мышечного тонус .

Н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в доз х 50-150 мг/кг (внутрибрюшинно) не вызыв ет н рушений координ ции движений мышей н вр щ ющемся стержне, н рушений походки и мышечного тонус .

2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в субст нции в дозе 100 мг/кг (внутрибрюшинно) вызыв ет у мышей н рушение координ ции движений н вр щ ющемся стержне и н рушение походки у 30% мышей, в дозе 150 мг/кг – у 50% животных (TD_{50}).

Т ким обр зом, н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т , в отличие от 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в субст нции, не вызыв ет нейротоксических эффектов, выр ж ющихся в изменении моторных функций.

Заключение / Conclusion

Исследов ния пок з ли, что 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т н н оч стиц х (PLGA-лецитин) с твином обл д ет выр женным противосудорожным действием. Н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т н предупред ет р звитие тонической экстензии и гибель животных в б зисном тесте МЭШ, моделирующем первично-генер лизов нные судороги по типу «больших» судорожных прип дков (Grand mal); превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в субст нции по пок з телью ED_{50} – в 2,7 р з , по пок з телью ED_{16} – в 5 р з. Н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т предупред ет р звитие генер лизов нных клонических судорог и гибель животных в тесте нт гонизм с кор золом, моделирующем генер лизов нные судороги по типу «м лых» судорожных прип дков (Petit mal). Противосудорожный эффект н ноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т является дозоз висимым и увеличив ется

с повышением дозы. По противосудорожной ктивности в тест х МЭШ и нт гонизм с кор золом 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т н н оч стиц х (PLGA-лецитин) с твином зн чительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в субст нции.

2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т н н оч стиц х (PLGA-лецитин) с твином обл д ет выр женной способностью достоверно уменьш ть в 3 р з число судорожных р зрядов н модели п рци льной эпилепсии у крыс с коб льт-индуцир ов нным эпилептогенным оч гом с вторично-генер лизов нными судорог ми в противоположность 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин ту в субст нции, который не обл д ет достоверным эффектом по д нной модели.

При эпилептическом ст тусе, вызв нном введении нейротоксин тиол ктон гомоцистеин крыс м с коб льтовой эпилепсией, н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т достоверно в 7,8 р з уменьш ет число вторично-генер лизов нных клонико-тонических приступов (ВГКТП); в 3 р з уменьш ет процент животных с ВГКТП; в 10 р з сниж ет долю погибших животных и осл бляет моторные судорожные проявления, возник ющие при эпилептическом ст тусе в межприступный период, что х р ктеризуется достоверным уменьшением в 1,5 р з числ судорожных приступов по типу «б р б нного боя» и увеличением в 2,8 р з л тентного времени н ступления моторных судорожных проявлений. 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т в субст нции не ок зыв ет противосудорожного действия н модели эпилептического ст тус .

Т ким обр зом, исследов ние н нок псулиро в нного преп р т н эксперимент льных моделях эпилепсии и модели эпист тус пок з ло эффективность и перспективность его применения. Н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т обл д ет широким спектром противосудорожных эффектов:

- Ок зыв ет з щитное действие при первично-генер лизов нных судорог х при моделиров нии больших и м лых прип дков;
- Н моделях фок льной (п рци льной) эпилепсии достоверно уменьш ет в 7,8 р з число вторично-генер лизов нных тонико-клонических судорог;
- Н ноформ 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцин т принципи льно отлич ется по противосудорожным эффект м от субст нции д нного преп р т – в 10 р з сниж ет долю погибших животных при эпилептическом ст тусе и не ок зыв ет нейротоксических эффектов в виде н рушения моторных функций, возник ющих в межприступном периоде.

Эксперимент льное изучение и н р ботк обр зцов н ноформ, обл д ющих противосудорожным действием, с возможностью их промышленного м сшт биров ния, созд ют предпосылки для созд ния преп р тов н пр вленного действия для «точечных» воздействий н п тологическую эпилептическую систему.

Литература:

1. Kwan P., Brodie M. J. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions. *Expert Rev Neurother.* 2006; 6 (3): 397-406.
2. Рукосуев Н. В. Препараты на основе наночастиц в клинической практике: достижения и перспективы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2014; 2 (4): 19-22.
3. Wagner V., Dullaart A., Bock A. K., Zweck A. The emerging nanomedicine landscape. *Nat Biotechnol.* 2006; 24 (10): 1211-1217. <https://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=817342>.
4. Воронин Т. А. Мексидол: основные нейropsychотропные эффекты и механизмы действия. *Фармацевтический журнал;* 2009; 180 (6): 1-4.
5. Воронин Т. А., Смирнов Л. Д., Алиев А. Н. и др. Зависимость между химическим строением и противосудорожной активностью производных 3-оксипиридина. *Фармакология и токсикология.* 1987; 1: 27-30.
6. Авакян Г. Н., Бурд С. Г., Вал'dман Е. А., Бадальян О. Л., Воронин Т. А. Экспериментальное и клиническое исследование эпилептология: Глава 8. Эпилепсия. С-Пб., 2010; 215-243.
7. Bashkatova V., Narkevich V., Vitskova G. et al. The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during penthylene-tetrazole-induced epileptiform model seizures. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2003; 27: 487-492.
8. Воронин Т. А., Неробков Л. Н. Методические указания по изучению противосудорожной активности фармацевтических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармацевтических веществ. М. 2005; 277-294.
9. Löscher W., Fassbender C. P., Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal electroshock seizure models. *Epilepsy Res.* 1991; 8 (2): 79-94.
10. Litchfield J. T., Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 1949; 96: 99; Waud D. R. Analysis of dose-response curves, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* P Bd 308, Suppl., S. 1, 1979.
11. Walton N.Y., Jaing Q., Hyun B., Treiman D. M. Lamotrigine vs. phenytoin for treatment of status epilepticus: comparison in an experimental model. *Epilepsy Res.* 1996; 24 (1): 19-28.
12. Аляутдин Р. Н., Джинджих швили И. А., Курхамев К. Б., Баланьян В. Ю., Петров В. Е., Воронин Т. А. Непрямой транспорт лекарственных веществ в мозг с помощью нанотранспортных систем. *Молекулярная медицина.* 2008; 3: 17-24.
13. Gulyaev A. E., Gelperina S. E., Skidan I. N., Antropov A. S., Kivman G. Y., Kreuter J. Significant transport of doxorubicin into the brain with polysorbate 80-coated nanoparticles, *Pharm. Res.* 1999; 16: 1564-1569.
14. Behan N., Birkinshaw C., Clarke N. Poly n-butyl cyanoacrylate nanoparticles: mechanistic study of polymerisation and particle formation. *Biomaterials.* 2001 Jun; 22 (11): 1335-44.
15. Vuthier C., Dubernet C., Fattal E., Pinto-Alphandery H., Couvreur P. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003 Apr 25; 55 (): 519-48.
16. Воронин Т. А., Руживин В. А., Джинджих швили И. А., Баланьян В. Ю., Неробков Л. Н., Авакян Г. Г. Перспективы создания нейropsychотропных препаратов с использованием нанотехнологий. Материалы IV съезда фармакологов России. 18-21 сентября 2012 г. Казань. 2012; с. 40.

References:

1. Kwan P., Brodie M. J. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions. *Expert Rev Neurother.* 2006; 6 (3): 397-406.
2. Rukosueva N. V. Preparations on the basis of nano particles in clinical practice: achievements and prospects. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii.* 2014; 2 (4): 19-22 (in Russian).
3. Wagner V., Dullaart A., Bock A. K., Zweck A. The emerging nanomedicine landscape. *Nat Biotechnol.* 2006; 24 (10): 1211-1217.
4. Voronina T. A. Mexidol: main neuropsychotropic effects and mechanism of action. *Farmateka.* 2009; 180 (6): 1-4 (in Russian).
5. Voronina T. A., Smirnov L. D., Aliev A. N. et al. The relationship between the chemical structure and the anticonvulsant activity of 3-hydroxypyridine derivatives. *Farmakologiya i toksikologiya.* 1987; 1: 27-30 (in Russian).
6. Avakyan G. N., Burd S. G., Val'dman E. A., Badalyan O. L., Voronina T. A. Experimental and clinical epileptology: Chapter 8. *Epilepsy.* S-Pb. 2010; 215-243 (in Russian).
7. Bashkatova V., Narkevich V., Vitskova G. et al. The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during penthylene-tetrazole-induced epileptiform model seizures. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2003; 27: 487-492.
8. Voronina T. A., Nerobkova L. N. Guidelines for the study of anticonvulsant activity of pharmacological substances. *Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances.* Moscow. 2005; 277-294 (in Russian).
9. Löscher W., Fassbender C. P., Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal electroshock seizure models. *Epilepsy Res.* 1991; 8 (2): 79-94.
10. Litchfield J. T., Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 1949; 96: 99; Waud D. R. Analysis of dose-response curves, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* P Bd 308, Suppl., S. 1, 1979.
11. Walton N.Y., Jaing Q., Hyun B., Treiman D. M. Lamotrigine vs. phenytoin for treatment of status epilepticus: comparison in an experimental model. *Epilepsy Res.* 1996; 24 (1): 19-28.
12. Alyautdin R. N., Dzhindzhishvili I. A., Kurahmaeva K. B., Balabanyan V. Yu., Petrov V. E., Voronina T. A. Directed transport of drugs to the brain with nanotransport system. *Molekulyarnaya medicina.* 2008; 3: 17-24.
13. Gulyaev A. E., Gelperina S. E., Skidan I. N., Antropov A. S., Kivman G. Y., Kreuter J. Significant transport of doxorubicin into the brain with polysorbate 80-coated nanoparticles, *Pharm. Res.* 1999; 16: 1564-1569.
14. Behan N., Birkinshaw C., Clarke N. Poly n-butyl cyanoacrylate nanoparticles: mechanistic study of polymerisation and particle formation. *Biomaterials.* 2001 Jun; 22 (11): 1335-44.
15. Vuthier C., Dubernet C., Fattal E., Pinto-Alphandery H., Couvreur P. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003 Apr 25; 55 (): 519-48.
16. Voronina T. A., Kurahmaeva K. B., Razzhivina V. A., Avakyan G. G. Perspectives of creation neuropsychotropic drugs with nanotechnology. *Materialy IV sezda-farmakologov Rossii.* 18-21 sentyabrya 2012 g. Kazan. Russia. 2012. s. 40.

Сведения об авторах:

Авакян Георгий Гигикович – к.м.н., доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. E-mail: avakyan_georgy@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8985-8227>.

Воронина Татьяна Александровна – профессор, д.м.н., руководитель лаборатории психотрофармакологии ФГБНУ «НИИ Формологии им. В.В. Зукосова». E-mail: voroninata38@gmail.com. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3566-6203>.

Неробкова Любовь Николаевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории психотрофармакологии ФГБНУ «НИИ Формологии им. В.В. Зукосова». E-mail: Ln_Nerobkova@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0314-1258>.

Авакян Гигик Норайрович – д.м.н., заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. E-mail: gavakyan@yandex.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0978-1398>.

About the authors:

Avakyan Georgii Gagikovich – MD, PhD, Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Pirogov Russian National Research Medical University. E-mail: avakyan_georgy@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8985-8227>.

Voronina Tatyana Aleksandrovna – MD, Professor & Head, Laboratory of Psychopharmacology, Zakusov Institute of Pharmacology of RAS. Address: Baltiiskaya str., 8, Moscow, 125315, Russia. Tel.: +74956012414. E-mail: voroninata38@gmail.com. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3566-6203>.

Nerobkova Lyubov Nikolaevna – PhD, Senior Research Fellow, Zakusov Institute of Pharmacology of RAS. Address: Baltiiskaya str., 8, Moscow, 125315, Russia. E-mail: Ln_Nerobkova@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0314-1258>.

Avakyan Gagik Norairovich – MD, PhD, Honored Scientist of Russia, Professor at the Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Pirogov Russian National Research Medical University. E-mail: gavakyan@yandex.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0978-1398>.