

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 (495) 646-64-95, 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. Островитянова, д. 1, Москва 117997, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «НИИ Фармакологии им. В.В. Закусова» (ул. Балтийская, 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 гемато-энцефалический 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 научном 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 противоэпилептической терапии [1]. Для преодоления фармакорезистентности необходима разработка новейших технологий и противоэпилептических препаратов (ПЭП) с возможностями воздействия на новые патогенетические звенья — «мишени» эпилептической системы.

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

2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат широко применяется в медицинской практике России в качестве противоишемического, нейропротекторного, противосудорожного, ноотропного, анксиолитического средства. 2-этил-6-метил-3-оксипиридина 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-оксипиридина сукцинат в субстанции и таблетках обладает способностью ослаблять судороги, вызванные введением коразола, бемегида, биксукуллина, тиосемикарбазида, пикротоксина и проведением максимального электрошока. Под влиянием 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината наблюдается уменьшение числа животных с судорожными припадками, увеличивается латентное вре-

мя наступления судорог и снижается длительность судорожного припадка [5].

На модели парциальной эпилепсии установлено, что в стадии генерализации 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат уменьшает длительность разрядов [6]. Действие производных 3-оксипиридина реализуется в детерминантных очагах — в лимбико-гипоталамических структурах; в дуотерапии они потенцируют противосудорожный эффект ПЭП. Производные 3-оксипиридина влияют на характер эпилептической активности (ЭпА); активируют 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-оксипиридина сукцинат уступает по противосудорожной активности традиционным, современным противоэпилептическим препаратам, таким как вальпроаты и карбамазепин. В сравнении с другими противоэпилептическими препаратами 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат не обладает значимой активностью при эпилептическом статусе [5,6]. Кроме того, при повышении доз 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината могут возникнуть побочные эффекты с нарушением моторных функций [6-8].

Преимуществами наночастиц препаратов являются: снижение действующих доз и повышение эффективности препарата; обеспечение прохождения через ГЭБ; целенаправленная транспортная доставка препарата; снижение побочных эффектов и токсичности препарата; улучшение фармакокинетики и фармакодинамики [2,9-11]. Поэтому большой научный и практический интерес представляет разработка наночастиц 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината.

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

Материалы и методы / Materials and Methods

Разработан нанопрепарат с использованием биологически активного вещества 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината и полибутилцианоакрилатных (ПБЦА) наночастиц и фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ (с лецитина с добавлением твина). 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 наносомальных форм лекарственных веществ [12-16]. Известен способ получения наносомальной формы лекарственного вещества (ЛВ), где в качестве полимерного носителя использовались поли(бутил)цианоакрилатные наночастицы, полученные методом эмульсионной полимеризации мономера [13]. Недостаток способа – лекарственное вещество вводилось после начала полимеризации, что увеличивало долю ЛВ, сорбированного на поверхности частиц, а не внутри. Если же активное вещество вводить до начала полимеризации, то в водной среде лекарственное вещество иницирует полимеризацию мономера и образование наночастиц. Однако это может привести к неконтролируемому образованию полимерной массы: к потерям по массе как носителя, так и ЛВ; полимеризация проходит слишком быстро, и вместо тонкой наносuspension образуется грубый осадок [14,15].

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

Изучались преимущества наночастиц препарата перед 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинатом в субстанции на экспериментальных моделях: тесте максимального электрошока (МЭШ); тесте антагонизма с коразолом; у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом и вторично-генерализованными судорогами; эпилептического статуса и в межприступном периоде при эпилептическом статусе, а также изучались побочные нейротоксические эффекты 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на наночастицах. Дизайн экспериментального исследования представлен на **рисунке 1**.

Тест МЭШ

Тест МЭШ – базисная методика 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-оксипиридина сукцината на наночастицах проводили в опытах на белых беспородных мышам-самцах массой 20-26 г. МЭШ создавали путем проведения через корнеальные электроды электрических стимулов (50 Hz, 50mA длительностью 0,2 сек.).

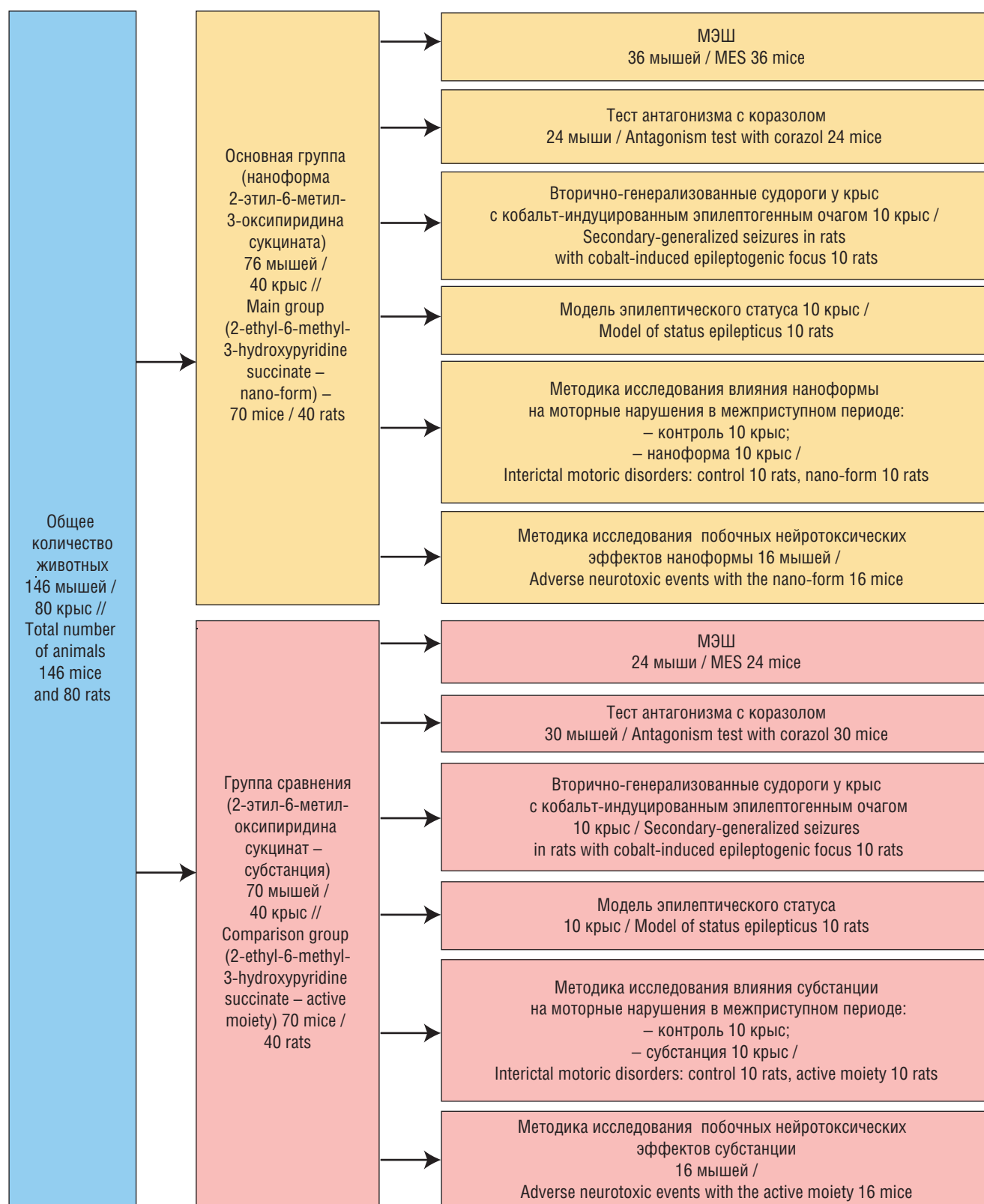


Рисунок 1. Дизайн экспериментального исследования.

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 эпистатуса (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 возникает тоническая экстензия задних и передних конечностей и затем клонические судороги и гибель животных. Противосудорожный эффект вещества оценивали по его способности предупреждать тоническую экстензию и гибель животных в процентах. 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 сравнения использовали 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат в субстанции. Исследуемые вещества вводили внутривентриально за 30 мин. до начала эксперимента.

Тест антагонизма с коразолом

Тест антагонизма с коразолом, как и тест максимального 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. Исследование 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на наночастицах в тесте антагонизма с коразолом проводили в опытах на белых беспородных мышках-самцах, массой 20-26 г. Коразол в дозе, вызывающей судороги у 97% животных (ЭД97), вводили подкожно в область шейного отдела спины. На первом этапе определяли кривую зависимости «доза – эффект для коразола». Животных наблюдали в течение 60 мин. после инъекции коразола и регистрировали процент животных с наличием генерализованных клонических судорог с утратой рефлекса переворачивания. На основе полученных данных рассчитывали методом пробит-анализа [10] дозу коразола, вызывающую судороги у 97% животных (ЭД97). Для определения противосудорожной активности 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината коразол в дозе ЭД97 вводили подкожно через 30 мин. после 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината (на пике максимального эффекта 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината) и затем осуществляли регистрацию судорог в течение 60 мин. отдельно у каждого животного. Животных, у которых не наблюдалось (после введения вещества и затем коразола) в течение 60 мин. повторяющихся клонических судорог передних и/или задних конечностей длительностью более чем 3 сек. без потери и с потерей рефлекса переворачивания, тонические судороги и гибель, считали защищенными. Регистрировали число генерализованных клонических судорог с утратой рефлекса переворачивания в среднем у животного, латентное время 1-го генерализованного приступа и процент выживших животных у которых наблюдается защитный противосу-

дорожный эффект 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината, вводимого в различных дозах. На основании 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 сравнения использовали 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат в субстанции. Исследуемые вещества вводили внутривентриально за 30 мин. до коразола.

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

Эпилептогенный очаг создавался аппликацией порошка металлического кобальта на поверхность двигательной области (сенсомоторной) коры левого полушария мозга крыс [8,11]. В кости черепа на расстоянии 1,2 мм вперед от брегмы и 1,5 мм в сторону от сагиттального шва просверливалось трепанационное отверстие, в которое вводилась стеклянная канюля с порошком кобальта. Операцию проводили в условиях анестезии под нембуталовым наркозом (40 мг/кг, внутримышечно). Канюлю закрепляли на поверхности черепа при помощи висват-цемента. Одновременно в мозг крысы вживляли электроды, изготовленные из нихромовой проволоки (диаметром 90-120 мкр), в лаковой изоляции для регистрации электрограмм. Концы электродов припаивали к посеребренным штырькам, которые закрепляли на кости черепа, также как и канюлю. Электроды вживляли в ипсилатеральную 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 началом 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 разрядов в электрограммах коры ипсилатерального полушария и значительно меньшей выраженностью ее в других отведениях (24-48 ч после аппликации кобальта); 2-й этап – наличие вторичных генерализованных эпилептиформных разрядов как в контралатеральном полушарии, так и в подкорковых структурах (5-7-е сут.), 3-й этап – уменьшение эпилептических разрядов в кортикограммах 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).

Препарат / воздействие // Drug / Effect	Доза мг/кг, в/б // Dose mg/kg, i/p	Процент мышей с тоническими судорогами / 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-оксипиридина сукцинат Субстанция + 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 сукцинат-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 статуса

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой тела 220-250 г с хронически вживленными электродами и кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом в сенсомоторной области коры. Эпилептогенный очаг создавали по методике, описанной выше. Начиная с 4-го дня после аппликации кобальта ежедневно проводили ЭЭГ-мониторинг. На 7-8-й день после аппликации кобальта, когда у всех крыс отмечались стойкие изменения электрической активности, клонические подергивания передних лап или головы, проводили провокацию эпилептического статуса по методике, описанной ранее [8,11].

Эпилептический статус вызывали внутримышечным введением тиолактона гомоцистеина (DL-homocysteine thiolactone, НСТ) в дозе 5,5 ммоль/кг, разводимого в 3,5 мл/кг нормального физиологического раствора непосредственно перед использованием. Мониторирование электрической активности проводили сразу после инъекции НСТ и до конца эксперимента, что позволяет определить точное время наступления вторично генерализованных клонико-тонических приступов (ВГКТП) и определить временные интервалы между последовательными приступами. Для оценки способности веществ устранять развившийся статус исследуемые вещества вводили за 15 мин. до введения нейротоксина (сразу после регистрации фоновой активности).

Введение препаратов при моделировании вторично-генерализованных судорог и эпистатуса

Наноформу 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината вводили внутривентриально в дозе 44 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали субстанцию 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в дозе 100 мг/кг внутривентриально. Исследуемые вещества вводили однократно, через 15 мин. после начала регистрации ЭЭГ. Регистрацию вторично генерализованной ЭпА проводили в течение часа после введения веществ. Биоэлектрическую активность мозга крыс регистрировали в течение 15 мин до (фоновая регистрация) и в течение 2 ч после введения нейротоксина. Контрольной группе животных в те же сроки вводили физиологический раствор в равных объемах. Способность веществ устранять эпилептический статус оценивали по уменьшению числа ВГКТП и латентного времени наступления ВГКТП, а в межприступный период оценивали моторные проявления судорог, характеризующиеся комплексными подергиваниями и «барабанным боем». Кроме того, регистрировали гибель животных.

Исследование побочных нейротоксических эффектов наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината

Оценку нейротоксичности (ухудшение моторной функции) проводили у мышей по нарушению координации движений в тесте вращающегося 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-оксипиридина сукцинат субстанция+ 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-оксипиридина 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 лапами, удерживались на нем. Неспособность животных удерживаться на вращающемся стержне в течение 1 мин. хотя бы один раз из трех попыток учитывалась как показатель нарушения координации движений, нарушения походки, поз, мышечного тонуса. Исследовались несколько доз наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината и 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в субстанции. Затем методом пробит-анализа (Litchfield, Wilcoxon) рассчитывалась ТД₅₀ – доза, оказывающая 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. Закусова».

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

анализа (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 – доза, оказывающая нейротоксическое действие на животных.

Результаты / Results

Противосудорожное действие наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на судороги, вызванные МЭШ

Установлено, что наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината предупреждает как развитие тонической экстензии, так и гибель крыс, вызванную проведением МЭШ (табл. 1).

Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината зависит от дозы препарата и усиливается с ее повышением. В малой дозе 12,8 мг/кг наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината 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 наблюдается предупреждение судорог и гибель 16% мышей (ЭД₁₆) составляет для наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина 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.

Показатель / Parameter	Контроль (до введения веществ) / Base line (before drug injection)	Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината, 44 мг/кг // 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate nano-form, 44 mg/kg	2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат в субстанции, 100 мг/кг // 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate active moiety, 100 mg/kg
Число разрядов в минуту / Number of discharges per min	17,1± 4,95	5,5±0,57*	13,6±3,12
Длительность разрядов в минуту / Duration of discharges for 1 min	2,75±0,55	3,04±0,08	2,2±0,47
Длительность одного разряда / 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.

ната 24,14 (20,11±28,96) мг/кг, а доза, 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 наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината значительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат в субстанции. Доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 16% мышей (ED_{16}) составляет для 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в субстанции 120,3 (100,25±144,96) мг/кг, а доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 50% мышей (ED_{50}) – 229,72 (191,02±294,97) мг/кг (см. табл. 1).

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

Противосудорожное действие наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на судороги, вызванные коразолом

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

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

Рассчитанная доза коразола, при введении которой судороги и гибель возникает у 97% животных (ED_{97}), составляет 105 мг/кг. У контрольных животных после введения коразола в дозе ED_{97} судорожные проявления развивались 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 рефлекса переворачивания; 3 – генерализованные клонические судороги передних и задних конечностей с утратой рефлекса переворачивания; 4 – тоническая экстензия передних конечностей с потерей рефлекса переворачивания; 5 – тоническая экстензия передних и задних конечностей с утратой рефлекса переворачивания; 6 – гибель животных. Основным показателем при оценке противосудорожного эффекта препарата является предупреждение генерализованных клонических судорог передних и задних конечностей с утратой рефлекса переворачивания и предупреждение гибели животных, что и оценивалось в настоящем исследовании.

Установлено, что наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината предупреждает как развитие генерализованных клонических судорог, так и гибель животных, вызванную введением коразола (табл. 2).

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

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.

Вещества / Compound	Доза в/б, мг/кг // Dose i.p., mg/kg	Число ВГКТП за 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-Наноформа этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината / 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.

сукцината 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. Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината достоверно увеличивает время наступления первого генерализованного приступа: в дозе 96 мг/кг – в 2 раза, а в дозе 128 мг/кг – в 3,7 раза.

Доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибели 16% мышей ($ЭD_{16}$), составляет для наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината 65,51 (54,59÷78,61) мг/кг, а 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 антагонизма с коразолом наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината 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-оксипиридина сукцината в субстанции 89,5 (74,58÷107,4) мг/кг, а доза, при которой наблюдается предупреждение судорог и гибель 50% мышей ($ЭD_{50}$) – 166,81 (139,08÷200,17) мг/кг (см. табл. 2). Следовательно, наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината по противосудорожной активности в тесте антагонизма с коразолом превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции по показателю $ЭD_{50}$ в 1,4 раза, а по показателю $ЭD_{16}$ – в 1,5 раза. Наряду 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 наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината достоверно увеличивает время наступления первого приступа в дозе 96 мг/кг.

Таким образом, наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината обладает выраженным

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

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

Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината 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 аппликации кобальта. Эта стадия характеризуется наличием вторичной генерализованной эпилептиформной активности (ЭПА) в различных структурах мозга со стабильным уровнем синхронизированных пароксизмальных разрядов. Регистрировали число вторично-генерализованных эпилептиформных разрядов (отдельных пароксизмов) за минуту, длительность разрядов за минуту и длительность одного разряда в электрограммах зеркального (контралатерального) очага и подкорковых структур (дорзальный гиппокамп и латеральный гипоталамус).

Наноформу 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината вводили внутривентрикулярно 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-оксипиридина сукцината 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.

станцию 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в дозе 100 мг/кг внутривенно. Исследуемые вещества вводили однократно, через 15 мин. после начала регистрации ЭЭГ.

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

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

2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат в субстанции не обладал достоверными противосудорожными эффектами на данной модели и существенно уступал по активности наноформе 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината (см. табл. 3).

Таким образом, 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат на наночастицах (PLGA-лецитин) с твином обладает выраженной способностью достоверно в 3 раза уменьшать число судорожных разрядов на модели парциальной 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 по данной модели.

Противосудорожное действие наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината при эпилептическом статусе

Установлено, что наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината 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-оксипиридина сукцината значительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции по противосудорожной активности в тесте эпилептического статуса.

Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в дозе 44 мг/кг оказывает выраженное 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-оксипиридина сукцината достоверно в 1,5 раз уменьшается число судорожных приступов по типу «барабанного боя» и в 2,8 раз увеличивается латентное время наступления этих моторных судорожных проявлений (табл. 5).

Влияние на моторные нарушения в межприступном периоде

2-этил-6-метил-3-оксипиридина 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 уступает по активности наноформе 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината (см. табл. 5).

Таким образом, при эпилептическом статусе, вызванном введением нейротоксина тиолактона гомо-

цистеина крысам с кобальтовой эпилепсией, наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината достоверно в 7,8 раз уменьшает число вторично-генерализованных клонико-тонических приступов (ВГКТП); в 3 раза уменьшает долю животных с ВГКТП; снижает в 10 раз долю погибших животных и ослабляет моторные судорожные проявления, возникающие при эпилептическом статусе в межприступный период, что характеризуется достоверным уменьшением в 1,5 раз числа судорожных приступов по типу «барабанного боя» и увеличением в 2,8 раз латентного времени наступления моторных судорожных проявлений.

Побочные нейротоксические эффекты наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцината и 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции

По методике определения побочных нейротоксических эффектов установлено, что контрольные мыши удерживаются на вращающемся стержне по несколько минут и у них не наблюдается нарушения походки, поз, мышечного тонуса.

Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в дозах 50-150 мг/кг (внутрибрюшинно) не вызывает нарушений координации движений мышей на вращающемся стержне, нарушений походки и мышечного тонуса.

2-Этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции в дозе 100 мг/кг (внутрибрюшинно) вызывает у мышей нарушение координации движений на вращающемся стержне и нарушение походки у 30% мышей, а в дозе 150 мг/кг – у 50% животных (TD_{50}).

Таким образом, наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината, в отличие от 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината в субстанции, не вызывает нейротоксических эффектов, выражающихся в изменении моторных функций.

Заключение / Conclusion

Исследования показали, что 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат на наночастицах (PLGA-лецитин) с твином обладает выраженным противосудорожным действием. Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината на предупреждает развитие тонической экстензии и гибель животных в базисном тесте МЭШ, моделирующем первично-генерализованные судороги по типу «больших» судорожных припадков (Grand mal); превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат в субстанции по показателю ED_{50} – в 2,7 раза, а по показателю ED_{16} – в 5 раз. Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината предупреждает развитие генерализованных клонических судорог и гибель животных в тесте антагонизма с коразолом, моделирующем генерализованные судороги по типу «малых» судорожных припадков (Petit mal). Противосудорожный эффект наноформы 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината является дозозависимым и увеличивается

с повышением дозы. По противосудорожной активности в тестах МЭШ и антагонизма с коразолом 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат на наночастицах (PLGA-лецитин) с твином значительно превосходит 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат в субстанции.

2-Этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат на наночастицах (PLGA-лецитин) с твином обладает выраженной способностью достоверно уменьшать в 3 раза число судорожных разрядов на модели парциальной эпилепсии у крыс с кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом с вторично-генерализованными судорогами в противоположность 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинату в субстанции, который не обладает достоверным эффектом по данной модели.

При эпилептическом статусе, вызванном введением нейротоксина тиолактона гомоцистеина крысам с кобальтовой эпилепсией, наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината достоверно в 7,8 раз уменьшает число вторично-генерализованных клонико-тонических приступов (ВГКТП); в 3 раза уменьшает процент животных с ВГКТП; в 10 раз снижает долю погибших животных и ослабляет моторные судорожные проявления, возникающие при эпилептическом статусе в межприступный период, что характеризуется достоверным уменьшением в 1,5 раз числа судорожных приступов по типу «барабанного боя» и увеличением в 2,8 раз латентного времени наступления моторных судорожных проявлений. 2-Этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат в субстанции не оказывает противосудорожного действия на модели эпилептического статуса.

Таким образом, исследование нанокапсулированного препарата на экспериментальных моделях эпилепсии и модели эпистатуса показало эффективность и перспективность его применения. Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината обладает широким спектром противосудорожных эффектов:

- Оказывает защитное действие при первично-генерализованных судорогах при моделировании больших и малых припадков;
- На моделях фокальной (парциальной) эпилепсии достоверно уменьшает в 7,8 раз число вторично-генерализованных тонико-клонических судорог;
- Наноформа 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината принципиально отличается по противосудорожным эффектам от субстанции данного препарата – в 10 раз снижает долю погибших животных при эпилептическом статусе и не оказывает нейротоксических эффектов в виде нарушения моторных функций, возникающих в межприступном периоде.

Экспериментальное изучение и наработка образцов наноформ, обладающих противосудорожным действием, с возможностью их промышленного масштабирования, создают предпосылки для создания препаратов направленного действия для «точечных» воздействий на патологическую эпилептическую систему.

Литература:

1. Kwan P., Brodie M. J. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions. *Expert Rev Neurol.* 2006; 6 (3): 397-406.
2. Рукосуева Н. В. Препараты на основе нано частиц 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.biblionline.ru/view.aspx?id=817342>.
4. Воронина Т. А. Мексидол: основные нейрорепаративные эффекты и механизм действия. *Фарматека*; 2009; 180 (6): 1-4.
5. Воронина 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., Вальдман Е. А., Бадалян О. Л., Воронина Т. А. Экспериментальная и клиническая 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 pentylenetetrazole-induced epileptiform model seizures. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2003; 27: 487-492.
8. Воронина Т. А., Неробкова Л. Н. Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических 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; W a u d 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., Джинджихашвили И. А., Курахмаева К. Б., Балабанян В. Ю., Петров В. Е., Воронина Т. А. Направленный 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: a mechanistic study of polymerisation and particle formation. *Biomaterials*. 2001 Jun; 22 (11): 1335-44.
15. Vauthier C., Dubernet C., Fattal E., Pinto-Alphandary H., Couvreur P. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003 Apr 25; 55 (a): 519-48.
16. Воронина Т. А., Разживина В. А., Джинджихашвили И. А., Балабанян В. Ю., Неробкова Л. Н., Авакян Г. Г. Перспективы создания нейрорепаративных 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 Neurol.* 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 pentylenetetrazole-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; W a u d 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: a mechanistic study of polymerisation and particle formation. *Biomaterials*. 2001 Jun; 22 (11): 1335-44.
15. Vauthier C., Dubernet C., Fattal E., Pinto-Alphandary H., Couvreur P. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003 Apr 25; 55(a): 519-48.
16. Voronina T. A., Kurahmaeva K. B., Razzhivina V. A., Balabanyan V. Yu., Nerobkova L. N., Avakyan G. G. Perspectives of creation neuropsychotropic drugs with nanotechnology. Materialy IV sezd-farmakologov Rossii. 18-21 sentyabrya 2012 g. Kazan. Russia. 2012. s. 40.

Сведения об авторах:

Авакян Георгий Гагикович – 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 психофармакологии ФГБНУ «НИИ Фармакологии им. В. В. Закусова». E-mail: voroninata38@gmail.com. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3566-6203>.

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

Авакян Гагик Норайрович – д.м.н., заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ГБОУ ВПО 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>.