

<https://doi.org/10.47183/mes.2025-327>

УДК 616-099:615.099.08



ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ ОРИГИНАЛЬНЫХ АМИНОЭФИРОВ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ИНГИБИТОРОМ ХОЛИНЭСТЕРАЗ

А.В. Бельская[✉], А.С. Мелехова, В.Н. Зорина, А.Я. Беспалов, М.В. Мельникова, А.А. Бондаренко

Научно-клинический центр токсикологии им. академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Наиболее распространенной причиной острых интоксикаций, сопровождающихся развитием судорожного синдрома, являются ингибиторы холинэстераз в составе бытовой химии, агрохимикатов и ряда лекарственных средств. Отсроченное и повторное применение существующих антидотов малоэффективно. К соединениям, перспективным для разработки альтернативных средств терапии, относятся производные вальпроевой кислоты.

Цель. Оценка противосудорожной эффективности оригинальных аминоэфиров вальпроевой кислоты при интоксикации ингибитором холинэстеразы — фенилкарбаматом.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на беспородных белых крысах-самцах возрастом 3 месяца и массой тела 200–240 г. При определении средних летальных доз новых соединений использовали табличный экспресс-метод по В.Б. Прозоровскому. Для моделирования судорожного синдрома внутрибрюшинно вводили крысам-самцам фенилкарбамат в дозе 1 мг/кг м.т. Оценивали противосудорожную активность аминоэфиров вальпроевой кислоты: N-метил-4-пиперидиновый (ABK), хинуклидиновый (XABK) и тропиновый (TABK), вводимые в дозах 21,5 и 43 мг/кг м.т. после начала судорог. Исследование проведено на 4 опытных группах: фенилкарбамат «Ф» ($n = 8$), Ф+ABK ($n = 16$), Ф+TABK ($n = 16$), Ф+XABK ($n = 16$). Исследуемые субстанции растворяли в 0,9%-ном растворе хлорида натрия и вводили внутрибрюшинно, с учетом межвидового пересчета доз. Объем вводимого внутрибрюшинно раствора составлял 0,1 мл/100 г. Выраженность судорожного синдрома в эксперименте оценивали по шкале Racine. Учитывали показатели эффективности: латентный период, выраженность и продолжительность судорожного синдрома, летальность. Статистическую обработку результатов исследования производили с помощью пакета программы Statistica 13.0 (Statsoft, США).

Результаты. Установленные значения ЛД₅₀ оригинальных аминоэфиров вальпроевой кислоты соответствуют 3-му классу умеренно токсичных веществ. В дозе 21,5 мг/кг м.т. значительно уменьшалась доля крыс с выраженными судорогами во всех группах, наиболее быстрый противосудорожный эффект регистрировали в группе XABK (через 10 мин судороги отсутствовали). Эффективность ABK и TABK при использовании в дозе 43 мг/кг м.т. была сопоставима с дозой 21,5 мг/кг м.т., в группе XABK через 10 мин доля животных с судорогами оставалась высокой. Достоверное уменьшение продолжительности судорог выявлено в группе XABK в дозах 21,5 и 43 мг/кг м.т. Достоверное снижение интенсивности судорог выявлено в группах ABK и XABK в дозе 21,5 мг/кг м.т., группах ABK и TABK — в дозе 43 мг/кг м.т.

Выводы. Новые аминоэфиры вальпроевой кислоты проявляют противосудорожную активность при интоксикации обратимым ингибитором холинэстераз. В дозе 21,5 мг/кг м.т. наиболее эффективен XABK, однако в дозе 43 мг/кг м.т. наблюдаются проявления токсичности и более эффективен ABK. Несмотря на летальность животных, TABK также проявляет свою эффективность в дозе 43 мг/кг м.т.

Ключевые слова: аминоэфиры вальпроевой кислоты; судорожный синдром; ингибиторы холинэстераз; карбаматы; противосудорожная терапия

Для цитирования: Бельская А.В., Мелехова А.С., Зорина В.Н., Беспалов А.Я., Мельникова М.В., Бондаренко А.А. Противосудорожная активность оригинальных аминоэфиров вальпроевой кислоты при интоксикации ингибитором холинэстераз. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2025. <https://doi.org/10.47183/mes.2025-327>

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного задания ФМБА по теме «Разработка оригинальных фармацевтических субстанций — антагонистов ингибиторов холинэстеразы» (шифр «Проводник» Рег. № 124022400179-8), а также в рамках государственного контракта «Разработка медикаментозного средства купирования судорожного синдрома безотносительно вызвавшего его химического фактора», шифр «Роса».

Благодарности: Верведе А.Б. за помощь в статистической обработке данных, Прокопенко Л.И. за синтез оригинальных аминоэфиров вальпроевой кислоты.

Соответствие принципам этики: исследование выполнено с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Проведение исследований одобрено на заседании биоэтического комитета ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России (протокол № 1/22 от 22.02.2022).

Потенциальный конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

✉ Бельская Алиса Владимировна belskayaalisa@gmail.com

Статья поступила: 10.06.2025 **После доработки:** 04.08.2025 **Принята к публикации:** 22.09.2025 **Online first:** 17.10.2025

ANTICONSULSANT ACTIVITY OF ORIGINAL VALPROIC ACID AMINOETHERS IN CHOLINESTERASE INHIBITOR POISONING

Alisa V. Belskaya[✉], Aleksandra S. Melekhova, Veronika N. Zorina, Aleksandr Ya. Bepalov, Margarita V. Melnikova, Anastasiya A. Bondarenko

Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology, St. Petersburg, Russia

© А.В. Бельская, А.С. Мелехова, В.Н. Зорина, А.Я. Беспалов, М.В. Мельникова, А.А. Бондаренко, 2025

Introduction. Cholinesterase inhibitors present in household chemicals, agrochemicals, and a number of medicinal products represent the most common cause of acute intoxications accompanied by the development of convulsive syndrome. Delayed and repeated administration of existing antidotes proves ineffective. Compounds that are promising for the development of alternative therapeutic agents include derivatives of valproic acid.

Objective. Evaluation of the anticonvulsant efficacy of original valproic acid aminoethers in intoxication with phenylcarbamate as a cholinesterase inhibitor.

Materials and methods. Experiments were conducted using outbred white male rats aged 3 months with a body weight of 200–240 g. The tabular express method by Prozorovsky was used to determine the median lethal doses of the new compounds. To model the convulsive syndrome, phenylcarbamate was administered intraperitoneally to male rats at a dose of 1 mg/kg bw. The anticonvulsant activity of valproic acid aminoethers — N-methyl-4-piperidinol (VAA), quinuclidinol (QVA), and tropinol (TVA) — was assessed. The preparations were administered at doses of 21.5 mg/kg bw and 43 mg/kg bw after the onset of convulsions. The study was conducted using four experimental groups: phenylcarbamate — P ($n = 8$), P+VAA ($n = 16$), P+TVA ($n = 16$), and P+QVA ($n = 16$). The test substances were dissolved in 0.9% sodium chloride solution and administered intraperitoneally, taking interspecies dose conversion into account. The volume of the intraperitoneally administered solution was 0.1 mL/100 g. The severity of the convulsive syndrome in the experiment was assessed using the Racine scale. The following efficacy indicators were taken into account: latent period, severity and duration of convulsive syndrome, and mortality. Statistical processing of the research results was performed using the Statistica 13.0 software package (Statsoft, USA).

Results. The established LD_{50} values of the original valproic acid aminoethers under study correspond to class 3 of moderately toxic substances. At a dose of 21.5 mg/kg bw, the proportion of rats with severe convulsions significantly decreased in all groups; the fastest anticonvulsant effect was recorded in the QVA group (after 10 min, convulsions were absent). The efficacy of VAA and TVA at a dose of 43 mg/kg bw was comparable to the dose of 21.5 mg/kg bw; in the QVA group, the proportion of animals with convulsions remained high after 10 min. A significant reduction in the duration of convulsions was revealed in the QVA group at doses of 21.5 mg/kg bw and 43 mg/kg bw. A significant decrease in the intensity of convulsions was detected in the VAA and QVA groups at a dose of 21.5 mg/kg bw, and at a dose of 43 mg/kg bw in the VAA and TVA groups.

Conclusions. The new aminoethers of valproic acid exhibit anticonvulsant activity in intoxication with a reversible cholinesterase inhibitor. At a dose of 21.5 mg/kg bw, QVA is the most effective; however, at a dose of 43 mg/kg bw, manifestations of toxicity are observed and VAA is more effective. Despite animal mortality, TVA also demonstrates its efficacy at a dose of 43 mg/kg bw.

Keywords: valproic acid aminoethers; convulsive syndrome; cholinesterase inhibitors; carbamates; anticonvulsant therapy

For citation: Belskaya A.V., Melekhova A.S., Zorina V.N., Bessalov A.Ya., Melnikova M.V., Bondarenko A.A. Anticonvulsant activity of original valproic acid aminoethers in cholinesterase inhibitor poisoning. *Extreme Medicine*. 2025. <https://doi.org/10.47183/mes.2025-327>

Funding: The study was carried out within the framework of the state task of the FMBA on the topic “Development of original pharmaceutical substances — antagonists of cholinesterase inhibitors” (code “Provodnik” Reg. No. 124022400179-8), as well as within the framework of the state contract “Development of a medication for the relief of convulsive syndrome regardless of the chemical factor that caused it” code “Rosa”.

Acknowledgments: the authors express their gratitude to Alexey B. Verveda for his assistance in statistical data processing and to Ljubov I. Prokopenko for the synthesis of the original valproic acid aminoethers.

Compliance with the ethical principles: The study was conducted in compliance with the bioethics rules approved by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. The research protocol was approved by the meeting of the Bioethics Committee of the Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology (Protocol No. 1/22 of 22.02.2022).

Potential conflict of interest: authors declare no conflict of interest.

✉ Alisa V. Belskaya belskayaalisa@gmail.com

Received: 10 June 2025 **Revised:** 04 Aug. 2025 **Accepted:** 22 Sept. 2025 **Online first:** 17 Oct. 2025

ВВЕДЕНИЕ

Основной причиной развития генерализованного судорожного синдрома токсической этиологии по-прежнему являются отравления ингибиторами холинэстераз. К веществам данной группы относятся необратимые ингибиторы, в первую очередь фосфорорганические соединения (ФОС), и обратимые ингибиторы, преимущественно производные карбаминовой кислоты (карбаматы). Карбаматы и ФОС входят в состав агрохимии и бытовой химии (пестициды, инсектициды), используются при производстве пластификаторов и полимерных материалов. Карбаматы активно применяются и в фармацевтической промышленности в составе лекарственных средств [1, 2]. Количество пострадавших от отравления ингибиторами холинэстераз (бытовые отравления, отравления агрохимикатами, передозировка лекарственных средств, суициды) составляет в мире по несколько миллионов в год.

Токсическое воздействие ингибиторов холинэстераз на организм приводит к развитию миоза, бронхоспазма, гиперсекреции, рвоты, аритмии и дыхательной недостаточности, являющихся результатом усиленной мускариновой и никотиновой стимуляции на фоне ингибирования активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ), способствующей накоплению ацетилхолина в синапсах нейронов и развитию холинергического синдрома [3]; дополнительно ингибируются бутирилхолинэстераза, карбоксилэстераза и некоторые другие ферменты [1, 4, 5]. Проявления интоксикации со стороны центральной нервной системы включают генерализованные судорожные припадки, которые могут длиться более 30 мин и сопровождаться выраженным повреждением нейронов и представителем нейроглиального окружения головного мозга. Далее холинергические проявления дополняются глутаматергической эксайтотоксичностью, прогрессией нейровоспаления и нейродегенерацией, у пострадавших могут длительно наблюдаться стойкие неврологические нарушения [6].

Очевидно, что в целях повышения выживаемости при остром отравлении ингибиторами холинэстераз, а также нейропротекции и предотвращения дисфункции центральной нервной системы в отдаленном постинтоксикационном периоде необходимо быстро и эффективно купировать судороги. Однако существующая антидотная терапия предназначена в большей степени для снижения степени тяжести и предотвращения летальных исходов на самых ранних этапах интоксикации (до развития судорог), эффективность ее применения на фоне активно развивающегося или развившегося судорожного синдрома значительно снижается. В частности, атропин [5] воздействует только на мускариновые, но не на никотиновые холинергические рецепторы [6] и наиболее эффективен при профилактическом введении в первые минуты после воздействия. Оксимы (пралидоксим и другие) рекомендованы как профилактические антидоты, и только при отравлении ФОС [4]. Из препаратов бензодиазепинового ряда, взаимодействующих с рецепторами гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), предпочтение отдается мидазоламу, быстрота действия которого определяется высокими пенетрантными свойствами в отношении гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [5]. Их эффективность может существенно снижаться на фоне значительного падения экспрессии субъединиц рецепторов и структурно связанных с ними белков и ферментов, способных взаимодействовать с данными веществами через 10–20 мин после воздействия [6], что значительно повышает процент рефрактерных (нечувствительных к действию антидота) судорог. Все вышеперечисленное определяет необходимость разработки новых эффективных средств купирования судорожного синдрома при отравлении ингибиторами холинэстераз.

Одним из перспективных направлений является разработка противосудорожных средств на основе производных вальпроевой кислоты. Известно, что вальпроевая кислота участвует в пре- и постсинаптической модуляции ГАМК-ергической передачи сигналов, воздействует на натриевые, кальциевые и калиевые каналы, способна повышать внеклеточный уровень серотонина и дофамина в гиппокампе, модулировать нейрогенез и оказывать нейропротекторное действие [7]. Однако эффективная доза антиконвульсанта при генерализованном судорожном синдроме очень велика (более 150 мг/кг м.т.), что ограничивает его применение в качестве антидота, к тому же высокие дозы вальпроевой кислоты отличаются тератогенным эффектом [8].

Для уменьшения эффективной дозы проводятся разработки новых лекарственных средств на основе

вальпроевой кислоты. В частности, разработан вальпромид (VPM), действующий как «пролекарство» (вальпроевая кислота высвобождается в процессе гидролиза в желудке) [8, 9]. При этом VPM рекомендован к применению только при биполярных расстройствах (не как противосудорожное средство) и одобрен только во Франции и Италии (Depamide®) [9]. Разработан валноктамид (VCD) — изомер вальпромида, обладающий собственной терапевтической активностью (биотрансформация с выделением вальпроевой кислоты в организме минимальна). На данный момент VCD входит в состав седативных средств и как противосудорожное средство прошел только фазу IIb клинических испытаний [8]. Синтезирован секбутилпропилацетамид (SPD) — гомолог VCD, показавший в доклинических исследованиях высокую противосудорожную активность на различных экспериментальных моделях, в том числе и в случаях бензодиазепин-резистентных судорог [8]. Эффективность SPD обусловлена значительно большей скоростью проникновения через гематоэнцефалический барьер (в 12 раз быстрее, чем вальпроевая кислота), продемонстрировано, что SPD обеспечивал сохранение когнитивных функций и уменьшал повреждение нейронов [10]. Однако SPD и VCD малорастворимы в воде и применяются в виде эмульсии [11], что неудобно для применения в качестве антидота. Все вышеперечисленные производные вальпроевой кислоты не зарегистрированы в качестве средств купирования генерализованного судорожного синдрома.

Цель исследования — сравнительное изучение противосудорожной эффективности оригинальных субстанций аминоксифиров вальпроевой кислоты при отравлении ингибитором холинэстеразы — фенилкарбаматом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оригинальные производные вальпроевой кислоты были разработаны и синтезированы на базе лаборатории синтеза лекарственных препаратов ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России. Перечень и структурные формулы тестируемых субстанций представлены в таблице 1.

При проведении экспериментов в качестве тест-системы были использованы беспородные белые крысы-самцы возрастом 3 мес. и массой тела 200–240 г, поступившие из питомника НИЦ «Курчатовский институт» — ПЛЖ «Рапполово», Ленинградская область. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами¹.

Таблица 1. Молекулярные характеристики аминоксифиров вальпроевой кислоты

Название	Брутто-формула	Чистота (%)
(1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид (ABK)	$C_{14}H_{27}NO_2 \cdot HCl$	98,27
1-азабицикло[2,2,2]окт-3-ил-2-пропилпентаноат (XABK)	$C_{15}H_{27}NO_2 \cdot HCl$	98,03
8-метил-8-азабицикло[3,2,1]окто-3-ил-2-пропилпентаноат (TABK)	$C_{16}H_{29}NO_2 \cdot HCl$	98,09

Таблица составлена авторами

¹ СП 2.2.1.3218-14 от 28.09.2014 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

На первом этапе проводили оценку острой токсичности и определение средней летальной дозы TABK (тропиновый аминоэфир вальпроевой кислоты) и XABK (хинуклидиновый аминоэфир вальпроевой кислоты) с использованием экспресс-метода по В.Б. Прозоровскому [12]. Для исследования каждого из соединений экспериментальные животные были разделены на 4 группы по 2 крысы в каждой; производили однократное внутрибрюшинное введение исследуемых растворов (субстанции растворяли в 0,9%-ном растворе хлорида натрия). При изучении острой токсичности для субстанций TABK и XABK были выбраны следующие дозы: XABK 63,1, 79,4, 100,0, 126,0 мг/кг; TABK 79,4, 100,0, 126,0, 158,0 мг/кг. В ранее проведенных работах была определена ЛД₅₀ для ABK, равная $170 \pm 1,2$ мг/кг м.т. [13].

На втором этапе изучали фармакологическую активность субстанций на модели судорог, вызванных обратимым ингибитором холинэстераз — гидрохлоридом замещенного 2[[диметиламино)метил] арилдиметилкарбамата (далее — фенилкарбамат) [14]. Фенилкарбамат вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг м.т. [15]. Формировали следующие опытные группы: группа с изолированным введением фенилкарбамата «Ф» как судорожного агента ($n = 8$), 3 группы с введением «Ф» и последующим введением исследуемых средств коррекции: Ф+ABK ($n = 16$), Ф+TABK ($n = 16$), Ф+XABK ($n = 16$). Противосудорожную эффективность субстанций ABK, XABK и TABK оценивали в двух дозах — 21,5 и 43,0 мг/кг м.т. (по 8 животных на каждую дозу исследуемых веществ).

При выборе эффективных доз исследуемых субстанций и режима введения исходили из принятых в клинической практике дозировок и схем применения у человека вальпроата натрия (Конвулекса®). В качестве основы для расчета эффективной дозы взята средняя дозировка — 7 мг/кг м.т. Межвидовой пересчет доз с человека на крыс производили с использованием стандартных рекомендаций А.Н. Миронова². Расчет величин тестируемых доз осуществляли с использованием коэффициентов: величина терапевтической дозы для крысы составляла $7,0 \times 39$ (коэффициент для человека массой 70 кг) / 6,5 (коэффициент для крысы массой 200 г) $\approx 43,0$ мг/кг м.т.

Исследуемые субстанции растворяли в 0,9%-ном растворе хлорида натрия и вводили внутрибрюшинно, с учетом межвидового пересчета доз. Объем вводимого внутрибрюшинно раствора составлял 0,1 мл/100 г. Введение осуществляли в первые минуты после начала судорог 3–4-го уровня по шкале Racine [16], вызванных введением ингибитора холинэстераз.

Учитывали показатели эффективности: латентный период, выраженность и продолжительность судорожного синдрома, летальность. Наблюдение и регистрацию смертельных исходов проводили в течение суток. Летальность оценивали по доле погибших крыс от их общего количества в исследуемой группе после введения судорожного агента в течение суток наблюдения. Выраженность судорожного синдрома в эксперименте оценивали по шкале Racine. Судороги 4-го уровня и выше, эквивалентные генерализованным клонико-тоническим судорогам у человека, относили

к категории выраженных. Продолжительность судорожного синдрома измеряли в минутах. Для оценки значимости различий в частоте появления крыс с выраженными судорогами использовали точный критерий Фишера. Сравнительную оценку показателей судорожного синдрома у самцов крыс при отравлении фенилкарбаматом проводили с применением критерия Краскела – Уоллиса. Для выявления различий между отдельными группами, а также изучаемых субстанций с группой «Ф» использовали тест множественного сравнения Данна (post-hoc анализ). Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета программы Statistica 13.0 (Statsoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе работы по определению количественных значений характеристик острой токсичности при внутрибрюшинном введении XABK было установлено следующее распределение гибели крыс в каждой дозовой подгруппе: 0, 0, 2, 2 особи, что позволило определить величину ЛД₅₀ для XABK на уровне $89,8 \pm 7,1$ мг/кг; при внутрибрюшинном введении TABK — 0, 0, 2, 2 особи, что соответствовало ЛД₅₀, равной $113,1 \pm 8,9$ мг/кг. Исходя из полученных значений ЛД₅₀ оригинальных аминоэфиров вальпроевой кислоты соединения можно отнести к 3-му классу умеренно токсичных веществ.

На экспериментальной модели судорог, вызванных обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы (фенилкарбаматом) [12, 13], установлено, что при введении ABK, XABK и TABK в двух дозах (21,5 и 43,0 мг/кг м.т.) доля погибших крыс статистически значимо не отличалась от группы животных, получавших судорожный агент, вне зависимости от дозы и регистрируемого временного промежутка. В ходе эксперимента была зарегистрирована гибель 1 животного в группе «Ф» на 30 мин наблюдения и гибель одной крысы при введении TABK в дозе 21,5 мг/кг м.т. на 10 мин наблюдения, а также гибель 3 крыс в группе XABK в дозе 43,0 мг/кг м.т. на 20 мин наблюдения.

После введения фенилкарбамата доля крыс с выраженными судорогами в группе «Ф» начинала снижаться с 30 мин наблюдения на 14%, и далее к 70 мин судороги у животных не регистрировали. Введение оригинальных аминоэфиров снижало количество животных с выраженностью судорог 4-го уровня и выше (шкала Racine), что соответствует генерализованному судорожному синдрому у человека (табл. 2).

При введении исследуемых субстанций в дозе 21,5 мг/кг м.т. статистически значимое уменьшение доли крыс с выраженными судорогами отмечали в период от 10 до 40 мин наблюдения (табл. 2). При этом в группе Ф+XABK животные с выраженными судорогами полностью отсутствовали начиная с 10 мин наблюдения, в то время как в двух других группах противосудорожный эффект наступил в более поздние сроки. Так, у животных в группе Ф+TABK на 10 мин выраженных судорог не наблюдали, однако в последующие 20 мин были зарегистрированы случаи клонико-тонических судорог, которые закончились к 40 мин,

² Миронов АН. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012.

Таблица 2. Влияние исследуемых лекарственных средств на возникновение судорог у крыс при введении фенокарбамата и субстанций аминокислот вальпроовой кислоты

Группа	Временные промежутки, мин								
	0	5	10	20	30	40	50	60	70
Количество крыс (n/N) при введении субстанций в дозе 21,5 мг/кг м.т.									
Ф	8/8	8/8	8/8	8/8	6/7	5/7	3/7	1/7	0/7
Ф+АВК	8/8	8/8	3/8*	0/8*	0/8*	0/8*	0/8	0/8	0/8
Ф+ТАВК	8/8	8/8	0/7*	3/7*	1/7*	0/7*	0/7	0/7	0/7
Ф+ХАВК	8/8	8/8	0/8*	0/8*	0/8*	0/8*	0/8	0/8	0/8
Количество крыс (n/N) при введении субстанций в дозе 43,0 мг/кг м.т.									
Ф	8/8	8/8	8/8	8/8	6/7	5/7	3/7	1/7	0/7
Ф+АВК	8/8	8/8	2/8*	0/8*	0/8*	0/8*	0/8	0/8	0/8
Ф+ТАВК	8/8	8/8	1/8*	1/8*	0/8*	0/8*	0/7	0/7	0/7
Ф+ХАВК	8/8	8/8	8/8	0/8*	0/8*	0/8*	0/8	0/8	0/8

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечания: Ф — фенокарбамат; АВК — (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид; ХАВК — 1-азабикакло[2,2,2]окт-3-ил-2-пропилпентаноат; ТАВК — 8-метил-8-азабикакло[3,2,1]окто-3-ил-2-пропилпентаноат; n — количество крыс с выраженными судорогами; N — общее количество крыс в группе; * — различия статистически значимы в сравнении с группой Ф ($p \leq 0,05$).

а в группе Ф+АВК снижение уровня судорог произошло уже к 20 мин наблюдения. Не выявлено статистически значимых межгрупповых различий при сравнении животных, получавших различные субстанции в одинаковый временной промежуток.

В случае введения субстанций в дозе 43,0 мг/кг м.т. противосудорожная эффективность в группах Ф+АВК и Ф+ТАВК в целом совпадала с установленной при меньшей дозе. Однако в группе Ф+ХАВК через 10 мин после введения субстанции количество животных с выраженными судорогами не снизилось по сравнению с группой «Ф». В то же время к 10 мин в группах Ф+АВК и Ф+ТАВК количество животных с судорожным синдромом было статистически значимо ниже, чем в группе с изолированным введением фенокарбамата.

При оценке общей продолжительности судорог с применением статистической обработки результатов с использованием критерия Краскела – Уоллиса выявлено наличие статистически значимых различий между всеми исследуемыми группами при введении субстанций в обеих дозах (табл. 3).

В ходе анализа при построении квадратичной матрицы апостериорных сравнений (p -значения) продолжительности судорог после внутрибрюшинного введения исследуемых субстанций и в группе фенокарбамата с использованием post-hoc теста по Данну не выявлено статистически значимых межгрупповых различий.

Наряду с этим при сравнении продолжительности судорог в группе Ф+ХАВК (доза 21,5 мг/кг м.т.) со значениями в группе «Ф» обнаружено статистически значимое снижение Me продолжительности судорог на 77% ($p = 0,001$). Также зафиксирована меньшая Me

продолжительности судорог на 57% при сравнении показателя в группах Ф+ХАВК и Ф+АВК на уровне дозы 21,5 мг/кг м.т. ($p = 0,041$).

При введении субстанций в дозе 43,0 мг/кг м.т. установлены различия во времени продолжительности судорог, сопоставимые с результатами, полученными при изучении эффектов введения меньшей дозы, а именно при сравнении показателя в группе Ф+ХАВК с группой фенокарбамата ($p = 0,001$) и межгруппового различия Ф+ХАВК и Ф+АВК ($p = 0,039$).

Рассчитаны взвешенные по времени суммы баллов интенсивности судорог (AUC, площадь под кривой «судороги в баллах-время»). Погибшие особи из расчетов исключались. Продемонстрировано (табл. 4) наличие статистически значимых различий между показателями AUC при введении субстанций в дозах 21,5 мг/кг м.т. ($p = 0,001$) и 43,0 мг/кг м.т. ($p = 0,001$).

Установлено, что при введении субстанций в дозе 21,5 мг/кг м.т. взвешенные по времени суммы баллов интенсивности судорог в группе Ф+АВК были на 77% статистически значимо ниже, чем аналогичный показатель в группе фенокарбамата ($p = 0,041$), а в группе Ф+ХАВК — на 93% ($p = 0,001$) по медиане соответственно. В группе Ф+ТАВК уровень AUC был ниже на 84%, однако не достигал уровня статистической значимости в сравнении с группой «Ф». Статистически значимое снижение показателя AUC зафиксировано также в группе Ф+ХАВК по сравнению с группой Ф+ТАВК, разница составила 78% ($p = 0,026$).

При введении субстанций в дозе 43,0 мг/кг м.т. отмечено достоверное снижение Me показателя AUC в группе Ф+АВК на 59% ($p = 0,015$) и в группе Ф+ТАВК на 79% ($p = 0,001$) по сравнению с животными, получавшими фенокарбамат.

Таблица 3. Сравнительная оценка продолжительности судорог у крыс после внутрибрюшинного введения фенолкарбамата и субстанций аминоксифиров вальпроовой кислоты в дозах 21,5 и 43,0 мг/кг м.т.

Группа	Доза аминоксифиров вальпроовой кислоты	Количество животных	Продолжительность судорог, мин			p-значение межгрупповых различий ¹
			N	M _e	Min	Max
Ф	—	8	87,0	13,0	103,0	0,003
Ф+АВК	21,5 мг/кг м.т.	8	46,5	34,0	57,0	
Ф+ТАВК		8	40,0	8,0	44,0	
Ф+ХАВК		8	20,0	20,0	20,0	
Ф	—	8	87,0	13,0	103,0	0,002
Ф+АВК	43,0 мг/кг м.т.	8	70,0	31,0	81,0	
Ф+ТАВК		8	48,0	45,0	50,0	
Ф+ХАВК		8	30,0	12,0	32,0	

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: Ф — фенолкарбамат; АВК — (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид; ХАВК — 1-азабицикло[2,2,2]окт-3-ил-2-пропилпентаноат; ТАВК — 8-метил-8-азабицикло[3,2,1]окто-3-ил-2-пропилпентаноат; «—» — изолированное введение фенолкарбамата; ¹ — p-значение в критерии Краскела – Уоллиса.

Таблица 4. Сравнительная оценка взвешенной по времени суммы баллов интенсивности судорог у крыс самцов после внутрибрюшинного введения субстанций аминоксифиров вальпроовой кислоты в дозах 21,5 и 43,0 мг/кг м.т.

Группа	Доза аминоксифиров вальпроовой кислоты	Количество животных	Взвешенные по времени суммы баллов интенсивности судорог, баллы/мин			p-значение межгрупповых различий ¹
			M _e	min	max	
Ф	—	7	270	210	310	0,001
Ф+АВК	21,5 мг/кг м.т.	8	61	53	98	
Ф+ТАВК		7	85	48	115	
Ф+ХАВК		8	19	18	20	
Ф	—	7	270	210	310	0,001
Ф+АВК	43,0 мг/кг м.т.	8	110	63	183	
Ф+ТАВК		8	66	65	165	
Ф+ХАВК		5	78	78	90	

Таблица составлена авторами по собственным данным

Примечание: Ф — фенолкарбамат; АВК — (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид; ХАВК — 1-азабицикло[2,2,2]окт-3-ил-2-пропилпентаноат; ТАВК — 8-метил-8-азабицикло[3,2,1]окто-3-ил-2-пропилпентаноат; «—» — изолированное введение фенолкарбамата; ¹ — p-значение в критерии Краскела – Уоллиса.

На рисунках 1 и 2 представлена динамика медианных значений балльной оценки выраженности судорожного синдрома (от 0 до 6 баллов по шкале Racine) после введения исследуемых субстанций на протяжении 100 мин наблюдения. Введение субстанции ХАВК в дозе 21,5 мг/кг м.т. демонстрировало наиболее благоприятный график зависимости выраженности судорожного синдрома от времени, что соответствует большей противосудорожной эффективности данного соединения. В то время как при введении дозы

43,0 мг/кг м.т. более предпочтительные изменения наблюдали у животных, получивших АВК и ТАВК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение оригинальных аминоксифиров вальпроовой кислоты в организм на фоне острой интоксикации ингибитором холинэстераз способствовало выраженному снижению продолжительности судорог в первые

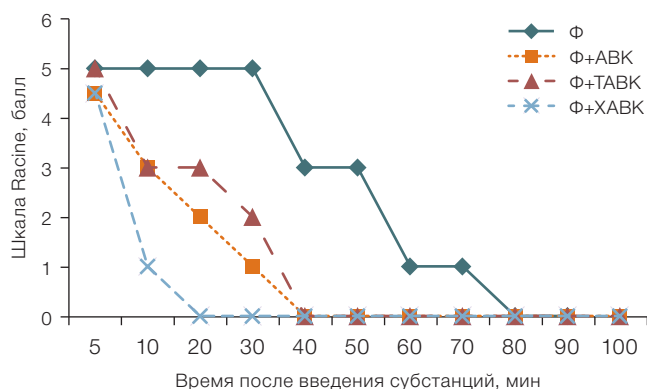


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 1. Обобщенные по медиане графики зависимости выраженности судорожного синдрома по шкале Racine в баллах от времени после введения самцам крыс субстанций аминокэфиров вальпроевой кислоты в дозе 21,5 мг/кг м.т.: Ф — фенилкарбамат; АВК — (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид; ХАВК — 1-азабицикло[2,2,2]окт-3-ил-2-пропилпентаноат; ТАВК — 8-метил-8-азабицикло[3,2,1]окто-3-ил-2-пропилпентаноат

10–20 мин от начала воздействия. Наибольшую эффективность продемонстрировал ХАВК в дозе 21,5 мг/кг м.т.: через 10 мин судороги прекращались у 100% животных.

Стандартизированная по времени сумма баллов интенсивности судорог (AUC) в группах, получавших оригинальные аминокэфиры вальпроевой кислоты в обеих дозировках, была значительно ниже по сравнению с группой животных без терапии (только введение фенилкарбамата), что свидетельствует о хорошей эффективности исследуемых субстанций при снижении выраженности не только интенсивных, но и других видов судорог. В целом наименьшее значение медианного уровня AUC (соответственно, наибольшая эффективность) установлено для ХАВК (хинуклидинольный эфир вальпроевой кислоты) при введении в дозе 21,5 мг/кг м.т. Образцы АВК и ТАВК в изученных дозировках были сопоставимы друг с другом по эффективности.

Несмотря на то что статистически значимых различий между исследуемыми группами во всех временных промежутках при изучении летальности не обнаружено, выявленные случаи гибели трех животных на 20 мин эксперимента на фоне применения ХАВК в высокой дозе (43,0 мг/кг м.т.) требуют дальнейшего изучения. Очевидно, что эти случаи могут быть связаны как с токсичностью ХАВК, так и с индивидуальной реакцией отдельных особей на воздействие фенилкарбамата, вне зависимости от применения ХАВК. Кроме того, выраженная эффективность ХАВК в дозе 21,5 мг/кг м.т. позволяет предположить, что возможно дальнейшее снижение дозы без потери эффективности, а доза 43 мг/кг м.т. является избыточной. Ранее установлено, что противосудорожная эффективность вальпроамида в эксперименте на мышах в 3–5 раз выше,

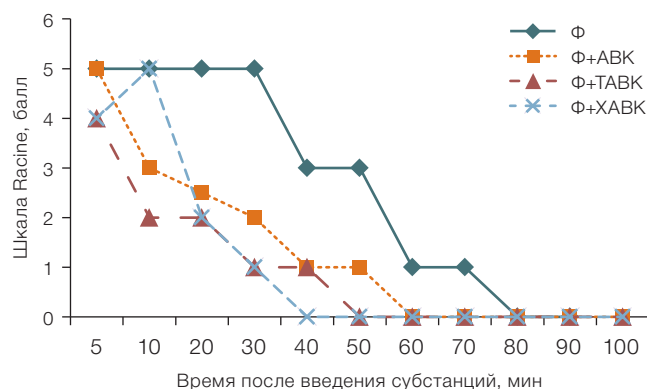


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным

Рис. 2. Обобщенные по медиане графики зависимости выраженности судорожного синдрома по шкале Racine в баллах от времени после введения самцам крыс субстанций аминокэфиров вальпроевой кислоты в дозе 43 мг/кг м.т.: Ф — фенилкарбамат; АВК — (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид; ХАВК — 1-азабицикло[2,2,2]окт-3-ил-2-пропилпентаноат; ТАВК — 8-метил-8-азабицикло[3,2,1]окто-3-ил-2-пропилпентаноат

чем у вальпроевой кислоты [9], возможно, и в случае ХАВК оптимальная доза также будет значительно ниже и не будет связана с какими-либо проявлениями токсичности.

Поскольку ранее продемонстрировано, что введение АВК животным в эксперименте снижало продолжительность судорожного синдрома эффективнее, чем атропин, являющийся стандартным антидотом при интоксикации ингибиторами холинэстераз [17], разработанные оригинальные производные вальпроевой кислоты следует признать перспективными для дальнейшего изучения и разработки средств купирования судорожного синдрома ингибиторами холинэстераз, в том числе и необратимыми.

Выводы

1. Разработанные оригинальные производные вальпроевой кислоты (АВК, ХАВК и ТАВК) эффективны при купировании судорожного синдрома, развивающегося на фоне отравления ингибитором холинэстеразы, и могут быть использованы для дальнейшего изучения в качестве лекарственных средств.

2. По совокупности изученных параметров наибольшей противосудорожной эффективностью в дозе 21,5 мг/кг м.т. обладала субстанция ХАВК, однако при использовании дозы на уровне 43 мг/кг м.т. более эффективное купирование судорожного синдрома продемонстрировала субстанция АВК. Субстанция ТАВК проявляла свою противосудорожную эффективность при использовании повышенной дозы на уровне 43 мг/кг м.т.

3. Необходимо провести дополнительный подбор эффективной дозы и изучить проявления токсичности хинуклидинольного эфира вальпроевой кислоты (ХАВК).

Литература / References

- King AM, Aaron CK. Organophosphate and carbamate poisoning. *Emergency Medicine Clinics of North America*. 2015;33(1):133–51.
<https://doi.org/10.1016/j.emc.2014.09.010>
- Matošević A, Bosak A. Carbamate group as structural motif in drugs: a review of carbamate derivatives used as therapeutic agents. *Arhiv za Higijenu Rada I Toksikologiju*. 2020;71(4):285–99.
<https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3466>
- Reddy BS, Skaria TG, Polepalli S, Vidyasagar S, Rao M, Vijayanarayana K, et al. Factors associated with outcomes in organophosphate and carbamate poisoning: a retrospective study. *Toxicological Research*. 2020;36(3):257–66.
<https://doi.org/10.1007/s43188-019-00029-x>
- Гладких ВД, Назаров ВБ. Реактиваторы холинэстеразы в терапии отравлений нейротропными физиологически активными веществами. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2014;1(47):54–6.
Gladikh VD, Nazarov VB. Cholinesterase reactivators in the therapy of intoxication with neurotropic physiologically active substances. *Extreme Medicine*. 2014;1(47):54–6 (In Russ.). EDN: [SAFQEV](#)
- Alozi M, Rawas-Qalaji M. Treating organophosphates poisoning: management challenges and potential solutions. *Critical Reviews in Toxicology*. 2020;50(9):764–79.
<https://doi.org/10.1080/10408444.2020.1837069>
- Reddy DS. Mechanism-based novel antidotes for organophosphate neurotoxicity. *Current Opinion in Toxicology*. 2019;14:35–45.
<https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.08.001>
- Romoli M, Mazzocchi P, D'Alonzo R, Siliquini S, Rinaldi VE, Verotti A, et al. Valproic Acid and Epilepsy: From Molecular Mechanisms to Clinical Evidences. *Current Neuropharmacology*. 2019;17(10):926–46
<https://doi.org/10.2174/1570159X17666181227165722>
- Bialer M, Cross H, Hedrich UBS, Lagae L, Lerche H, Loddenkemper T. Novel treatment approaches and pediatric research networks in status epilepticus. *Epilepsy & Behavior*. 2019;101(Pt B):106564.
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106564>
- Delage C, Palayer M, Etain B, Hagenimana M, Blaise N, Smati J, et al. Valproate, divalproex, valpromide: Are the differences in indications justified? *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023;158:114051.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.114051>
- Mawasi H, Bibi D, Shekh-Ahmad T, Shaul C, Blotnik S, Bialer M. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Correlation and Brain Penetration of sec-Butylpropylacetamide, a New CNS Drug Possessing Unique Activity against Status Epilepticus. *Molecular Pharmaceutics*. 2016;13(7):2492–6.
<https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b00221>
- Haines KM, Matson LM, Dunn EN, Ardinger CE, Lee-Stubbs R, Bibi D, et al. Comparative efficacy of valnoctamide and sec-butylpropylacetamide (SPD) in terminating nerve agent-induced seizures in pediatric rats. *Epilepsia*. 2019;60(2):315–21
<https://doi.org/10.1111/epi.14630>
- Прозоровский ВБ. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. *Психофармакология и биологическая наркология*. 2007;7(3–4):2090–120.
Prozorovsky VB. Statistical processing of pharmacological research results. *Psychopharmacology & Biological Narcology*. 2007;7(3–4):2090–120 (In Russ.). EDN: [JVWCBJ](#)
- Прокопенко ЛИ, Зайцева МА, Беспалов АЯ, Мелехова АС, Петров АН, Бельская АВ и др. Гидрохлорид (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноат, обладающий холинолитической и противосудорожной активностью. Патент Российской Федерации № 2714135; 2020. Prokopenko LI, Zaitseva MA, Bepalov AY, Melekhova AS, Petrov AN, Belskaya AV, et al. *Hydrochloride (1-methylpiperidin-4-yl)-2-propylpentanoate, which has anticholinergic and anticonvulsant activity*. Patent of the Russian Federation No. 2714135; 2020 (In Russ.).
- Беспалов АЯ, Прокопенко ЛИ, Горчакова ТЛ, Козлов ВК, Петров АН, Зайцева МА и др. Гидрохлориды замещенных 2-[(диметиламино)метил] арилдиметилкарбоматов, обладающие антихолинэстеразной активностью. Патент Российской Федерации № 2754133; 2021. Bepalov AY, Prokopenko LI, Gorchakova TL, Kozlov VK, Petrov AN, Zaitseva MA, et al. *Hydrochlorides of substituted 2-[(dimethylamino)methyl] aryl dimethyl carbomates with anticholinesterase activity*. Patent of the Russian Federation. No. 2754133; 2021 (In Russ.).
- Мелехова АС, Бельская АВ, Зорина ВН, Мельникова МВ, Кубарская ЛГ, Гайкова ОН. Новая экспериментальная модель судорожного синдрома на основе фенилкарбамата. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2024;26(4):38–48. Melekhova AS, Belskaya AV, Zorina VN, Melnikova MG, Kubarskaya LG, Gaikova ON. Experimental model of convulsive syndrome based on phenylcarbamate. *Extreme Medicine*. 2024;26(4):38–48 (In Russ.).
<https://doi.org/10.47183/mes.2024-26-4-38-48>
- Racine RJ Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1972;32(3):281–94.
[https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
- Мелехова АС, Петров АН, Беспалов АЯ, Бельская АВ, Мельникова МВ, Зацепин ЭП и др. Экспериментальная фармакотерапия судорожного синдрома при моделировании тяжелого отравления карбаматом. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. 2019;20(2):294–306.
Melekhova AS, Petrov AN, Bepalov AY, Belskaya AV, Melnikova MV, Zatsepin EP, et al. Experimental pharmacotherapy of convulsive syndrome in the simulation of severe carbamate poisoning. *Medline.ru. Russian Biomedical Journal* 2019;20(2):294–306 (In Russ.). EDN: [JRVAPQ](#)

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.В. Бельская — планирование экспериментов, статистическая обработка результатов, подготовка черновика рукописи; А.С. Мелехова — создание модели исследования острой токсичности и определение средней летальной дозы, расчет и выбор эффективных доз исследуемых субстанций и режимов введения; В.Н. Зорина — концептуализация, администрирование данных, поиск и анализ источников литературы, утверждение окончательного варианта рукописи; А.Я. Беспалов — разработка и синтез оригинальных аминокэфиров вальпроевой кислоты; М.В. Мельникова — работа с лабораторными животными, проведение экспериментов; А.А. Бондаренко — сбор и визуализация данных.

ОБ АВТОРАХ

Бельская Алиса Владимировна
<https://orcid.org/0000-0002-9343-4144>
belskayaalisa@gmail.com

Мелехова Александра Сергеевна
<https://orcid.org/0000-0003-1803-3815>
melehovaalexandra@gmail.com

Зорина Вероника Николаевна, д-р биол. наук
<https://orcid.org/0000-0001-9183-7663>
nilimmun@yandex.ru

Беспалов Александр Яковлевич, канд. хим. наук
<https://orcid.org/0000-0002-8118-8396>
albesp2011@yandex.ru

Мельникова Маргарита Викторовна
<https://orcid.org/0000-0002-2996-5151>
margarita10108@mail.ru

Бондаренко Анастасия Александровна
<https://orcid.org/0000-0002-9754-1537>
bondarenko-nastua@yandex.ru