

Изучение противопаркинсонического, противовоспалительного и анальгетического действия метаболита гимантана АДК-1058 в сравнении с гимантаном

Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Вальдман Е.А., Авдюнина Н.И.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва

Резюме. В сравнительном аспекте проведено изучение противопаркинсонического, противовоспалительного и противоболевого действия метаболита гимантана АДК-1058 и гимантана в эффективной дозе 20 мг/кг. АДК-1058 проявляет слабую противопаркинсоническую активность, снижая выраженность олигокинезии у мышей C57BL/6 с МФТП-вызванным паркинсоническим синдромом. АДК-1058 проявляет противовоспалительную активность на модели уксуснокислого перитонита, но не оказывает анальгетического действия в отношении висцеральной и соматической боли. Метаболит гимантана АДК-1058 (20 мг/кг) по противопаркинсоническому, противовоспалительному и противоболевому действию не превосходит соответствующую активность гимантана (20 мг/кг).

Ключевые слова: метаболит гимантана, паркинсонический синдром, МФТП, экссудативное воспаление, висцеральная боль, соматическая боль

Investigation of antiparkinsonian, anti-inflammatory and analgesic effects of ADK-1058, a metabolite of hemantane, in comparison with hemantane

Kapitsa I.G., Ivanova E.A., Voronina T.A., Valdman E.A., Avdiunina N.I.
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. Antiparkinsonian, anti-inflammatory and analgesic activity of ADK-1058, a metabolite of hemantane, was investigated in comparison with hemantane at the effective dose of 20 mg/kg. ADK-1058 exhibits a minor antiparkinsonian effect by reducing the severity of oligokinesia in C57BL/6 mice with MPTP-induced parkinsonian syndrome. ADK-1058 exhibits anti-inflammatory activity in the model of acetic acid peritonitis, but has no analgesic effect in visceral or somatic pain in mice. Effects of ADK-1058 at the dose of 20 mg/kg do not exceed antiparkinsonian, anti-inflammatory or analgesic effects of hemantane at the dose of 20 mg/kg.

Keywords: metabolite of hemantane, experimental parkinsonian syndrome, MPTP, exudative inflammation, visceral pain, somatic pain

Автор, ответственный за переписку:

Капица Инга Геннадиевна – к.б.н., ст. научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, Балтийская ул. 8; e-mail: ingakap73@mail.ru

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее заболевание головного мозга, преимущественно характеризующееся дегенерацией дофаминергических нейронов чёрной субстанции с образованием в них особых внутриклеточных включений (тельца Леви) и проявляющееся сочетанием гипокинезии с ригидностью, тремором покоя и постуральной неустойчивостью. Помимо классических двигательных нарушений, для БП характерен широкий спектр немоторных проявлений, включающий психические, вегетативные, сенсорные расстройства, нарушения сна и бодрствования, которые отражают вовлечение других структур центральной нервной системы, а также периферической нервной системы в патологический процесс [1]. Одно из значимых мест в структуре недвигательных симптомов БП занимают болевые синдромы, которые приводят к снижению качества жизни пациентов, отличаются сложностью патогенетических механизмов и трудностью в лечении. Частота

хронической боли при БП, продолжающейся свыше трёх месяцев, по данным разных авторов, составляет от 40 до 70% и превышает таковую в общей популяции (от 20 до 44%) [2]. Предполагают, что боль у пациентов может быть связана с основными симптомами паркинсонизма, прежде всего мышечной ригидностью, сопутствующей скелетно-мышечной патологией или может быть самостоятельным симптомом, отражающим нарушение функции ноцицептивной системы при БП [3]. Показано, что при адекватной терапии болей у пациентов с БП увеличивается двигательная активность, улучшаются социальная адаптация и качество жизни.

Гимантан — новый оригинальный препарат, созданный в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», обладает выраженной противопаркинсонической активностью, доказанной на экспериментальных моделях [4–6] и подтверждённой в клинике у больных с начальными стадиями БП [7]. Показано, что гимантан обладает противовоспалительной активностью как на модели экспериментального

нейровоспаления, так и на модели периферического воспаления [8], а также оказывает противоболевое действие [9, 10].

Результаты фармакокинетического исследования препарата показали, что в организме гимантан метаболизируется в гидроксильированные метаболиты [11]. Установлено, что период полувыведения гимантана и его метаболита, гидроксильированного в 2 разных положениях, в 2 раза меньше, чем период полувыведения гидроксильированного в одном положении метаболита [11], что явилось предпосылкой синтеза моногидроксильированного метаболита с целью создания более длительно действующего аналога гимантана. В опытно-технологическом отделе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» было синтезировано моногидроксильированное производное гимантана под шифром АДК-1058.

Целью данного исследования является сравнительная оценка антипаркинсонической, противовоспалительной и противоболевой активности метаболита гимантана АДК-1058 с гимантаном.

Материалы и методы

Опыты проводились на половозрелых инбредных мышах-самцах линии C57B1/6 весом 23–29 г. и на аутбредных белых мышах-самцах массой 24–26 г, полученных из Центрального питомника лабораторных животных «Столбовая», Московская область. Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде при 12-часовом световом режиме. Содержание животных осуществлялось в соответствии с нормативным документом «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев» от 06.04.1973 г., № 1045–73. Организация и проведение работы выполнялись в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами: Приказом Минздравсоцразвития РФ № 708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г. (Страсбург).

Для оценки антипаркинсонической активности соединений использовалась методика создания паркинсонического синдрома (ПС) при помощи однократного внутрибрюшинного (в/б) введения нейротоксина 1-метил 4-фенил 1,2,3,6 тетрагидропиридина (МФТП) мышам линии C57B1/6 в дозе 30 мг/кг [12]. Об антипаркинсонической активности соединений судили по уменьшению выраженности на их фоне основных экстрапирамидных нарушений, вызванных МФТП: ригидности, олигокинезии, нарушении координации движений и каталепсии, оценку которых проводили согласно методическим рекомендациям [12].

Влияние соединения АДК-1058 на выраженность экссудативного воспаления в сравнении с гимантаном исследовалось на модели «Уксуснокислый перитонит» у аутбредных белых мышей [13]. Мыши контрольной группы получали физиологический раствор, а опытных — гимантан или соединение АДК-1058 в дозе 20 мг/кг за 1 ч до введения уксусной кислоты. В ответ на введение 1% раствора уксусной кислоты у мышей развивается висцеральная болевая реакция, проявляющаяся специфическими болевыми движениями животных, — корчами, количество которых подсчитывали на протяжении 15 мин после введения агента [13, 14]. Через 3 ч после введения уксусной кислоты мышам подвергали эвтаназию методом цервикальной дислокации, вскрывали брюшную полость, собирали экссудат и измеряли его массу. О наличии у изучаемых соединений противоболевого действия судили по снижению количества корчей, а о наличии противовоспалительной активности — по снижению средней массы экссудата.

Исследование влияния соединения АДК-1058 на выраженность соматической боли в сравнении с гимантаном проводили в тесте «Отдергивания хвоста» у аутбредных белых мышей. АДК-1058 и гимантан вводили за 40 мин до тестирования в дозе 20 мг/кг. Животным контрольных групп вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Болевое раздражение наносили на хвост локально, воздействуя тепловым излучением с помощью анальгезиметра TSE-system (Германия) при интенсивности излучения, равной 25%, что соответствовало средней температуре раздражителя 50–55 °С. Регистрировали латентный период отдергивания хвоста в секундах, по увеличению которого делали вывод о наличии анальгетического действия соединений в отношении соматической боли [14].

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 8.0. В каждой экспериментальной группе было от 8 до 16 животных. Статистическую обработку проводили с помощью метода непараметрической статистики — критерия Манна–Уитни. Результаты в таблицах представлены как среднее \pm ошибка среднего (Mean \pm SEM). Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Метаболит гимантана АДК-1058 не оказал влияния на уменьшение ригидности у мышей с ПС. На фоне введения гимантана отмечалось недостоверное увеличение на 15% длины шага мышей с ПС по сравнению с группой активного контроля (табл. 1).

На фоне введения метаболита гимантана выявлено значимое уменьшение выраженности олигокинезии у мышей с ПС, оцениваемой в тесте «Открытое поле». Так, АДК-1058 достоверно повышал горизонтальную активность животных по сравнению с группой МФТП

Таблица 1

Влияние АДК-1058 в сравнении с гиммантаном на поведение мышей C57B1/6 с МФТП-вызванным паркинсоническим синдромом в тестах «Оценка ригидности» и «Открытое поле» (Mean±SEM)

| Группа | Оценка ригидности | Тест «Открытое поле» | |
|---------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|------------------------------|
| | длина шага, см | горизонтальная активность, ед. | вертикальная активность, ед. |
| Пассивный контроль (физ. р-р) | 6,30±0,2 | 67,3±6,6 | 13,5±2,0 |
| Активный контроль (МФТП 30 мг/кг в/б) | 4,12±0,2 [#] | 2,7±1,8 [#] | 0±0 [#] |
| Гиммантан 20 мг/кг в/б + МФТП | 4,74±0,3 | 44,8±11,0* | 2,8±1,1* |
| АДК-1058 20 мг/кг в/б + МФТП | 4,37±0,2 | 27,0±9,7* | 0,6±0,4 |

Примечание: [#] — $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с группой пассивного контроля; * — $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с группой активного контроля (МФТП).

Таблица 2

Влияние АДК-1058 в сравнении с гиммантаном на поведение мышей C57B1/6 с МФТП-вызванным паркинсоническим синдромом в тестах оценки координации движений (Mean±SEM)

| Группа | Вращающийся стержень (10 оборотов/мин) | Вертикальный стержень | |
|---------------------------------------|--|-----------------------|--------------|
| | ЛВ падения, с | ЛВ поворота, с | ЛВ спуска, с |
| Пассивный контроль (физ. р-р) | 164,5±11,1 | — | — |
| Активный контроль (МФТП 30 мг/кг в/б) | 38,0±6,7 [#] | 40,0±5,0 | 19,0±1,0 |
| Гиммантан 20 мг/кг в/б + МФТП | 63,2±7,2* | 4,8±0,8* | 9,8±1,2* |
| АДК-1058 20 мг/кг в/б + МФТП | 43,3±9,3 | 8,5±3,8* | 11,8±2,0 |

Примечание: * — $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с группой МФТП; [#] — $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с группой пассивного контроля; ЛВ — латентное время.

(табл. 1). Препарат сравнения гиммантан увеличил как число горизонтальных перемещений, так и число вертикальных стоек у мышей с ПС по сравнению с группой, получавшей только нейротоксин. Активность АДК-1058 в тесте «Открытое поле» не отличалась от действия гиммантана.

На фоне введения метаболита гиммантана мышам с ПС достоверного улучшения моторной активности и координации движений, регистрируемых в тесте «Вращающийся стержень», не выявлено, однако соединение способствовало улучшению вышеназванных показателей, о чем свидетельствовали данные, полученные в ходе выполнения теста «Вертикальный стержень». Так, введение АДК-1058 достоверно уменьшило в 4,7 раза латентное время, затрачиваемое на разворот животного на 180° в направлении спуска, и в 1,6 раза время, необходимое для спуска мыши с верхушки вертикального стержня (табл. 2).

Гиммантан статистически значимо снижал нарушения моторной активности и координации движений у мышей с ПС по сравнению с группой, которой вводили только нейротоксин (табл. 2).

Через 7 дней после однократного введения МФТП мышам C57B1/6 проводили изучение влияния метаболита гиммантана в сравнении с гиммантаном на выраженность каталепсии, потенцированной введением малой дозы галоперидола (0,1 мг/кг, подкожно). Показано, что на фоне метаболита АДК-1058 время нахождения

животных в неудобной позе «лектора» через 60 и 120 мин после введения галоперидола было на 40 и 24% меньше, соответственно, чем в группе МФТП, но эти различия не достигали уровня достоверности. Гиммантан как через 60, так и через 120 мин достоверно снижал выраженность каталепсии на 67,3 и 57%, соответственно, по сравнению с группой мышей, по-

Таблица 3

Влияние АДК-1058 в сравнении с гиммантаном на каталепсию, вызванную введением малой дозы галоперидола мышам C57B1/6 с МФТП-вызванным паркинсоническим синдромом (Mean±SEM)

| Группа | ЛВ нахождения в позе «лектора», с | |
|-------------------------------|--|---|
| | 60 мин после введения галоперидола 0,1 мг/кг | 120 мин после введения галоперидола 0,1 мг/кг |
| Пассивный контроль (физ. р-р) | 0,0 | 5,0±3,1 |
| МФТП 30 мг/кг в/б | 34,5±8,4 [#] | 94,6±10,2 [#] |
| Гиммантан 20 мг/кг в/б + МФТП | 11,3±6,5* | 40,7±14,6* |
| АДК-1058 20 мг/кг в/б + МФТП | 20,7±12,7 | 71,8±16,8 |

Примечание: * — $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с группой МФТП; [#] — $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с группой пассивного контроля; ЛВ — латентное время.

Таблица 4

Влияние АДК-1058 в сравнении с гимантаном на выраженность экссудативной реакции в тесте «Уксуснокислый перитонит» у мышей (Mean±SEM)

| Группа | Средняя масса экссудата, мг | |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | внутрибрюшинное введение | интрагастральное введение |
| Активный контроль, физ. р-р | 840,6±37,0 | 885,0±45,3 |
| Гимантан, 20 мг/кг | 541,4±37,5* | 646,8±79,1* |
| АДК-1058, 20 мг/кг | 626,4±68,1* | 595,9±55,8* |

Примечание: * — $p \leq 0,05$, достоверность различий по сравнению с контрольной группой.

Таблица 5

Влияние АДК-1058 в сравнении с гимантаном на выраженность висцеральной боли у мышей в тесте уксуснокислых корчей (Mean±SEM)

| Группа | Количество корчей, ед. | |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | внутрибрюшинное введение | интрагастральное введение |
| Активный контроль, физ. р-р | 55,4±1,8 | 74,6±4,0 |
| Гимантан, 20 мг/кг | 39,0±3,7* | 48,1±6,1* |
| АДК-1058, 20 мг/кг | 69,0±6,2 | 76,3±4,5 |

Примечание: * — $p \leq 0,05$ достоверность различий по сравнению с контрольной группой.

лучавших только МФТП (табл. 3). Влияние гимантана на выраженность катаlepsии статистически значимо не отличалось от подобного действия его метаболита.

Соединение АДК-1058 при в/б введении на 25,5% достоверно снижало среднюю массу экссудата относительно показателей контрольной группы, уступая при этом гимантану, который уменьшал выраженность экссудативной реакции на 35,6% (табл. 4). При интрагастральном введении метаболит был немного активнее гимантана: выраженность воспалительной реакции на его фоне достоверно уменьшалась на 32,7% относительно контрольной группы; тогда как при введении гимантана данное уменьшение составило 26,9% ($p < 0,05$).

Установлено, что метаболит гимантана АДК-1058 в дозе 20 мг/кг при обоих способах введения не только не снижал выраженность висцеральной боли у мышей, но даже несколько увеличивал болевую реакцию от-

Литература

1. Chaudhuri K.R., Schapira A.H. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. *Lancet Neurol.* 2009; 8: 464–474.
2. Lee M.A. Walker R.W., Hildreth T.J. et al. A survey of pain in idiopathic Parkinson's disease. *J. Pain Symptom Manage.* 2006; 32: 462–469.
3. Fahn S. Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. *Ann NY Acad Sci.* 2003; 991: 1–14.

Таблица 6

Влияние АДК-1058 в сравнении с гимантаном на выраженность соматической боли у мышей в тесте отдергивания хвоста (Mean±SEM)

| Группа | Латентный период, с | |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | внутрибрюшинное введение | интрагастральное введение |
| Активный контроль, физ. р-р | 4,7±0,2 | 4,3±0,2 |
| Гимантан, 20 мг/кг | 5,9±0,3* | 5,2±0,3* |
| АДК-1058, 20 мг/кг | 4,6±0,2 | 4,5±0,2 |

Примечание: * — $p \leq 0,05$ достоверность различий по сравнению с контрольной группой.

носителем значений контрольной группы (табл. 5). Гимантан в дозе 20 мг/кг проявлял выраженный противоболевой эффект, достоверно снижая среднее количество корчей на 29,6% и 35,5%, при в/б и интрагастральном введении, соответственно, относительно показателей контрольной группы.

При изучении влияния соединения АДК-1058 в тесте «Отдергивание хвоста» снижения выраженности соматической боли у мышей не наблюдалось. Гимантан как при в/б, так и интрагастральном введении, проявлял достоверную анальгетическую активность, увеличивая латентный период отдергивания хвоста у мышей на 25,8 и 20,6%, соответственно, относительно контрольной группы животных (табл. 6).

Выводы

1. Метаболит гимантана моногидроксилированное соединение АДК-1058 (20 мг/кг) проявляет слабую противопаркинсоническую активность, снижая выраженность отдельных экстрапирамидных нарушений, в основном олигокинезии, вызванных введением нейротоксина МФТП и проявляет противовоспалительную активность на модели уксуснокислого перитонита у мышей, но не оказывает анальгетического действия на моделях висцеральной и соматической боли.

2. Метаболит гимантана моногидроксилированное соединение АДК-1058 (20 мг/кг) по противопаркинсоническому, противовоспалительному и противоболевому действию не превосходит соответствующую активность гимантана (20 мг/кг).

4. Неробкова Л.Н., Вальдман Е.А., Воронина Т.А., Маркина Н.В., Шаркова Л.М. Влияние нового производного аминоадамантиана А7 на проявления паркинсонического синдрома, вызванного системным введением нейротоксина МФТП. *Эксп. и клин. фарм.* 2000; 3: 3–6.

5. Непоклонов А.В., Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Вальдман Е.А. Изучение эффектов гимантана на модели ранней («домоторной») стадии болезни паркинсона у крыс. *Эксп. и клин. фарм.* 2012; 75 (11): 3–6.

6. Иванова Е.А., Капица И.Г., Вальдман Е.А., Воронина Т.А. Противопаркинсоническая активность гимантана на модели гемипаркинсонического синдрома у крыс. Бюлл. Эксп. биол. и мед. 2015; 159 (3): 362–365.
7. Катунина Е.А., Петрухова А.В., Авакян Г.Н., Неробкова Л.Н., Воронина Т.А., Саядян Х.С. Возможности применения гимантана при лечении болезни Паркинсона. Журн. Неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2008; 108 (6): 24–27.
8. Иванова Е.А., Капица И.Г., Непоклонов А.В., Кокшенев И.И., Вальдман Е.А., Воронина Т.А. Противовоспалительная активность гимантана на моделях периферического воспаления и нейровоспаления, индуцированного липополисахаридом. Химико-фармацевт. журн. 2013; 47 (10): 12–15.
9. Средство для терапии боли и воспаления: заявка РФ № 2012139274/15 / Е.А. Вальдман [и др.]; заявл. 14.09.12; опубл. 20.03.14.
10. Ivanova E.A., Kapitsa I.G., Valdman E.A., Voronina T.A. Comparison of the analgesic activity of antiparkinsonian aminoadamantane derivatives amantadine and hemantane. *Advances in Parkinson's Disease*. 2016; 5: 50–60.
11. Литвин Е.А. Биотрансформация и фармакокинетика нового противопаркинсонического препарата гимантана (экспериментальное исследование). Автореф. ... канд. биол. наук: 14.03.06. М.: 2012: 24.
12. Воронина Т.А., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н., Капица И.Г. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с противопаркинсонической активностью. В кн: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012; 219–235.
13. Шварц Г.Я., Слюбаев Р.Д. Методические рекомендации по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств. В кн: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012; 746–58.
14. Воронина Т.А., Гузеватых Л.С. Методические рекомендации по изучению анальгетической активности лекарственных средств. В кн: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012; 197–218.