

СРАВНЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ГЛУТАМАТНОГО БЛОКАТОРА ИЭМ-1913 И МЕМАНТИНА

В.Е.Гмиро, С.Е.Сердюк, О.С.Веселкина*

ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, РФ; *ЗАО "Вертекс", Санкт-Петербург, РФ

Адамантансодержащий глутаматный блокатор ИЭМ-1913 (1-амино-4-(1-адамантанамино)-бутан дигидрохлорид) имеет равную с мемантином противопаркинсоническую активность, но превосходит его по противосудорожной, антидепрессивной и анальгезирующей активности, а также менее токсичен и более безопасен для применения. ИЭМ-1913 вызывает достоверные фармакологические эффекты в широком диапазоне доз (0.03-1.00 мг/кг), тогда как мемантин эффективен только в узком диапазоне (15-20 мг/кг). Высокая фармакологическая активность и низкая токсичность ИЭМ-1913 объясняются тем, что, в отличие от монокатионного селективного NMDA-блокатора мемантина, бис-катионный глутаматный блокатор ИЭМ-1913 вызывает комбинированный блок NMDA- и AMPA-рецепторов мозга.

Ключевые слова: NMDA, AMPA, ИЭМ-1913, мемантин, паркинсонизм

3,5-Диметил-1-аминоадамантан (мемантин) широко применяется в лечении хронических нейродегенеративных заболеваний ЦНС, болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона, а также нейропатической боли [1,3,6,9,11,12]. Серьезным недостатком мемантина является его недостаточно высокая лечебная активность, требующая применения максимально высоких доз, а также значительное нейротоксическое действие в дозах, превышающих лечебные всего в 3-5 раз. Мемантин имеет низкий терапевтический индекс (ТИ) и относится к категории лекарств с малой шириной терапевтического действия [2,7,10].

Синтезированное нами N-замещенное производное 1-аминоадамантана, содержащее 4-аминобутильный радикал (ИЭМ-1913), равноэффективно блокирующее NMDA- и AMPA-рецепторы в экспериментах на срезах мозга, значительно превосходит мемантин по противосудорожной активности на модели коразоловых судорог в широком диапазоне доз (0.3-3.0 мг/кг) и, в отличие

от мемантина, не вызывает атаксии у крыс в дозе до 200 мг/кг [4].

Антидепрессивное, противопаркинсоническое и анальгезирующее действие, а также токсичность и безопасность соединений, вызывающих комбинированный блок NMDA- и AMPA-рецепторов, ранее не исследовались.

Целью данной работы являлось комплексное исследование противосудорожной, анальгезирующей, противопаркинсонической и антидепрессивной активности, а также острой токсичности и безопасности смешанного блокатора AMPA- и NMDA-рецепторов ИЭМ-1913 в сравнении с эталонным NMDA-блокатором мемантином.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на крысах-самцах Вистар массой 160-170 г и беспородных белых мышах массой 20-22 г. В контрольной и опытной группах было 6-8 животных.

Противосудорожное действие веществ исследовали на модели коразоловых судорог у крыс (коразол 80 мг/кг внутримышечно). Тяжесть

Адрес для корреспонденции: gmiro2119@gmail.com. Гмиро В.Е.

коразоловых судорог оценивали по общепринятой 5-балльной шкале в течение 30 мин после введения коразола [8]. Исследуемые вещества, растворенные в воде, вводили однократно внутримышечно за 30 мин до введения коразола. Для каждой дозы ИЭМ-1913, а также взятого для сравнения мемантина определяли тяжесть судорог в баллах. Противосудорожное действие веществ оценивали по уменьшению тяжести судорог в баллах по сравнению с контролем.

Противопаркинсоническое действие веществ исследовали на модели каталепсии у крыс, вызванной введением галоперидола в дозе 1 мг/кг внутримышечно. Величину каталепсии оценивали по времени иммобилизации крысы, помещенной на крупную сетку под углом 45°, через 60 мин после введения галоперидола. Максимальная каталепсия у крыс регистрировалась при полной иммобилизации на сетке в течение 120 с наблюдения. Раствор исследуемого вещества в воде вводили однократно внутримышечно за 30 мин до введения галоперидола. Для количественной оценки противопаркинсонической (антикаталептической) активности ИЭМ-1913 и мемантина определяли уменьшение длительности иммобилизации по сравнению с контролем (дистиллированная вода).

Аналгезирующее действие веществ оценивали по удлинению латентного периода рефлекса отдергивания хвоста в тесте tail-flick у крыс [5]. Болевое раздражение моделировали путем погружения хвоста крысы в горячую воду (52±0.1°C). Латентный период отдергивания хвоста (время избавления от болевого раздражителя) определяли каждые 3 мин. Для оценки болевой чувствительности использовали крыс с коротким латентным периодом рефлекса (4-5 с) в последние 15 мин перед введением веществ. Раствор тестируемого вещества, а также взятый для сравнения мемантин вводили внутримышечно в нарастающих дозах до получения максимальной аналгезии (латентный период рефлекса отдергивания хвоста более 30 с) при последних трех измерениях болевой чувствительности. Для количественной оценки аналгезирующей активности ИЭМ-1913 и мемантина определяли минимальную эффективную дозу, которая вызывает максимальную аналгезию у крыс (латентный период рефлекса отдергивания хвоста более 30 с).

Антидепрессивное действие веществ исследовали в двухдневном плавательном тесте Порсольты у крыс. Крысу помещали в стеклянный цилиндр с водой (22°C). В 1-й день в течение 15 мин плавательного теста время иммобилизации крыс не фиксировали. Во 2-й день плавательного теста

определяли суммарное время иммобилизации в течение 5 мин повторного плавания. Растворы ИЭМ-1913 и мемантина в воде или дистиллированную воду (контроль) вводили однократно внутримышечно за 30 мин до повторного плавания крыс. Антидепрессивную активность ИЭМ-1913 и мемантина оценивали по уменьшению суммарного времени иммобилизации по сравнению с контролем в течение 5 мин повторного плавания.

Острую токсичность ИЭМ-1913 и мемантина определяли путем внутрибрюшинного введения интактным мышам в токсических дозах до получения 100% летального эффекта. Рассчитывали дозу вещества, вызывающую гибель 50% мышей (ЛД₅₀).

Безопасность веществ оценивали по ТИ: ЛД₅₀/ЭД₅₀ — отношение ЛД₅₀ к дозе, предупреждающей клонико-тонические коразоловые судороги у 50% крыс (ЭД₅₀). Для расчета ТИ использовали результаты экспериментов в тесте острой токсичности у мышей и в тесте коразоловых судорог у крыс.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение коразола (80 мг/кг внутримышечно) вызывало развитие у всех крыс генерализованных клонико-тонических судорог тяжестью 4-5 баллов. Мемантин при внутримышечном введении лишь в максимальной дозе 20 мг/кг вызывал статистически значимый по сравнению с контролем противосудорожный эффект, т.к. в 2.5 раза уменьшал тяжесть коразоловых судорог (с 4.8 до 1.9 балла; $p < 0.05$; табл. 1). ИЭМ-1913 при внутримышечном введении в дозах 0.03, 0.1 и 0.3 мг/кг статистически значимо (в 2.7-3.0 раза) уменьшал тяжесть коразоловых судорог: с 4.8 до 1.8, 1.6 и 1.6 балла соответственно; $p < 0.05$ (табл. 1). Следовательно, ИЭМ-1913 при инъекционном введении крысам в дозе 0.1 мг/кг (в 200 раз меньшей, чем у мемантина) вызывает в 1.3 раза более сильный, чем у мемантина, противосудорожный эффект на модели коразоловых судорог. В отличие от мемантина, эффективного только в максимальной дозе 20 мг/кг, ИЭМ-1913 вызывает статистически значимый противосудорожный эффект в диапазоне доз 0.03-0.3 мг/кг.

Введение галоперидола (1 мг/кг внутримышечно) через 60 мин вызывало у крысы, помещенной на крупную сетку под углом 45°, иммобилизацию длительностью 110-120 с (максимальная каталепсия). Мемантин при внутримышечном введении в дозе 3 мг/кг по сравнению с контролем достоверно (1.4 раза) уменьшал величину галоперидоловой каталепсии, т.к. укорачивал

длительность иммобилизации на сетке со 113 до 78 с (табл. 1). В большей дозе, 10 мг/кг внутримышечно, мемантин максимально эффективно (в 6.3 раза) уменьшал величину галоперидоловой катаlepsии: со 113 до 18 с ($p < 0.05$; табл. 1).

ИЭМ-1913 при введении в дозах 0.01 и 0.03 мг/кг внутримышечно статистически значимо (в 1.7-1.9 раза), уменьшал величину галоперидоловой катаlepsии по сравнению с контролем, т.к. укорачивал длительность иммобилизации на сетке со 113 с до 68 и 60 с соответственно ($p < 0.05$; табл. 1). В диапазоне доз 0.1-0.3 мг/кг ИЭМ-1913 максимально эффективно (в 5.0-5.7 раза), уменьшал величину галоперидоловой катаlepsии: со 113 до 24-20 с ($p < 0.05$; табл. 1).

Таким образом, ИЭМ-1913, как и эталонное противопаркинсоническое средство мемантин, при инъекционном введении обладает максимально высокой противопаркинсонической активностью, но в дозах, в 30-100 раз меньших, чем мемантин. В отличие от мемантина, эффективного только в высокой дозе 10 мг/кг, ИЭМ-1913 вызывает достоверный противопаркинсонический эффект в широком диапазоне доз 0.01-1.00 мг/кг.

У крыс контрольной группы (введение дистиллированной воды за 30 мин до тестирования внутримышечно) на 2-й день плавательного теста Порсольты суммарное время иммобилизации составляло 181 с, что свидетельствует о развитии максимальной депрессии. Мемантин при введении в дозах 1 и 5 мг/кг внутримышечно по сравнению с контролем недостоверно (в 1.2 и 1.9 раза), уменьшал длительность иммобилизации (табл. 1). Лишь

в высокой дозе 15 мг/кг мемантин статистически значимо (в 3.9 раза по сравнению с контролем) уменьшал иммобилизацию крыс в тесте Порсольты (снижал длительность иммобилизации до 46 с).

ИЭМ-1913 при введении в дозе 0.1 мг/кг внутримышечно статистически значимо по сравнению с контролем в 2.5 раза уменьшал длительность иммобилизации до 71 с ($p < 0.05$; табл. 1). В дозе 0.3 мг/кг ИЭМ-1913 максимально эффективно (в 6.4 раза по сравнению с контролем) уменьшал иммобилизацию крыс в тесте Порсольты: снижал длительность иммобилизации до 28 с ($p < 0.05$; табл. 1).

Таким образом, ИЭМ-1913 при инъекционном введении крысам в дозе 0.3 мг/кг (в 50 раз меньше, чем у мемантина) вызывает в 1.6 раза более сильный по сравнению с мемантином антидепрессивный эффект в тесте Порсольты. В отличие от мемантина, эффективного только в максимальной дозе 15 мг/кг, ИЭМ-1913 вызывает статистически значимый антидепрессивный эффект в диапазоне доз 0.1-0.3 мг/кг.

ИЭМ-1913 и мемантин при внутримышечном введении в минимальной эффективной дозе вызывали максимальную аналгезию (латентный период рефлекса отдергивания хвоста более 30 с; табл. 2). Следовательно, ИЭМ-1913 при инъекционном введении, подобно мемантину, вызывает максимальный аналгезирующий эффект, но в дозе в 52.8 раза меньше, чем мемантин.

ЛД₅₀ мемантина и ИЭМ-1913 составляют, соответственно, 79 и 193 мг/кг (табл. 2). Следовательно-

Таблица 1. Противосудорожное, противопаркинсоническое и антидепрессивное действие ИЭМ-1913 и мемантина ($M \pm m$)

Вещество	Доза, внутримышечно	Тяжесть коразоловых судорог, баллы	Длительность иммобилизации на сетке, с	Длительность иммобилизации при повторном плавании, с
Вода дистиллированная	—	4.8±0.4	113±8	181.0±14.3
Мемантин	1 мг/кг		111±7	149±15
	3 мг/кг		78±4	
	5 мг/кг	4.2±0.7		92.0±11.2
	10 мг/кг	3.4±0.5	18±4**	
	20 мг/кг	1.9±0.4*		46±4.1*
ИЭМ-1913	0.01 мг/кг	3.4±0.4	68±7	
	0.03 мг/кг	1.8±0.3*	60±6	106.0±6.6
	0.1 мг/кг	1.6±0.3*	24±4**	71.0±8.3*
	0.3 мг/кг	1.6±0.5*	20±5**	28.0±4.8**
	1.0 мг/кг		43±4*	

Примечание. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ по сравнению с контролем.

Таблица 2. Анальгезирующая активность, острая токсичность и ТИ ИЭМ-1913 и мемантина ($M \pm m$; $n=7$)

Вещество	Минимальная эффективная доза у крыс, мг/кг	ЛД ₅₀ у мышей, мг/кг	ТИ (ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀)
Мемантин	21.1±3.1	79±15	7.9 (79/10)
ИЭМ-1913	0.4±0.07	193±25	6430 (193/0.03)

но ЛД₅₀ у ИЭМ-1913 в 2.4 ниже, чем у мемантина.

Мемантин при внутрибрюшинном введении вызывает гибель 50% мышей (ЛД₅₀) в дозе 79 мг/кг, а коразоловые судороги при внутримышечном введении устраняет у 50% крыс (ЭД₅₀) в дозе 10 мг/кг (табл. 2). Поэтому мемантин имеет низкий ТИ, равный 7.9, свидетельствующий о недостаточной безопасности его применения. ЛД₅₀ ИЭМ-1913 при внутрибрюшинном введении в 2.4 раза больше, чем у мемантина, а при внутримышечном введении ИЭМ-1913 уже в малой дозе 0.03 мг/кг (в 300 раз меньшей, чем у мемантина) устраняет коразоловые судороги у 50% крыс (ЭД₅₀). Вследствие этого ИЭМ-1913 имеет очень высокий ТИ, равный 6430 (табл. 2). Таким образом, ИЭМ-1913 при инъекционном введении имеет ТИ в 814 раз выше, чем у мемантина, а следовательно, в отличие от мемантина, является практически нетоксичным и безопасным для применения.

Серьезным недостатком мемантина является недостаточно высокая противосудорожная, нейропротективная, противопаркинсоническая, антиамнестическая и противоишемическая активность, требующая его применения в максимально высоких дозах, а также значительное нейротоксическое действие в дозах, всего в 3-5 раз превышающих лечебные. Мемантин имеет низкий ТИ и относится к категории лекарств с малой шириной терапевтического действия [2,7,10].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ИЭМ-1913 обладает существенными преимуществами перед используемым в клинической практике мемантином, т.к. превосходит его по противосудорожной, антидепрессивной и анальгезирующей активности, имеет равную с мемантином противопаркинсоническую активность, но, в отличие от мемантина, является малотоксичным и более безопасным для применения соединением. В отличие от мемантина, эффективного только в максимальных дозах 10-20 мг/кг, ИЭМ-1913 вызывает статистически значимые фармакологические эффекты в

широком диапазоне доз 0.03-1.00 мг/кг.

В опытах *in vitro* на срезах гиппокампа крысы было показано, что ИЭМ-1913 является комбинированным блокатором NMDA- и AMPA-рецепторов [4]. Можно предположить, что высокая противопаркинсоническая, антидепрессивная, анальгезирующая и противосудорожная активность и низкая токсичность ИЭМ-1913 объясняется комбинированным блоком NMDA- и AMPA-рецепторов мозга. В отличие от мемантина, применяемого только для лечения болезни Альцгеймера и нейропатической боли, ИЭМ-1913 может быть предложен в качестве высокоэффективного и безопасного средства для лечения также паркинсонизма, эпилепсии и депрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилова С.И., Калын Я.Б., Селезнева Н.Д. и др. // Психиатр. и психофармакотер. 2005. Т. 7, № 2. С. 72-76.
2. Гмиро В.Е., Сердюк С.Е. // Экспер. и клин. фармакол. 2000. Т. 63, № 6. С. 3-8.
3. Гмиро В.Е., Журавский А.В., Комиссаров И.В., Тихонов В.Н. // Экспер. и клин. фармакол. 2002. Т. 65, № 1. С. 11-14.
4. Гмиро В.Е., Сердюк С.Е. // Бюл. exper. биол. 2008. Т. 145, № 6. С. 675-677.
5. Сердюк С.Е., Гмиро В.Е. // Бюл. exper. биол. 2007. Т. 144, № 11. С. 535-537.
6. Danysz W., Parsons C.G., Kornhuber J. et al. // Neurosci. Biobehav. Rev. 1997. Vol. 21, N 4. P. 455-468.
7. Ikonomidou C., Stefovskaja V., Turski L. // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97, N 23. P. 12 885-12 890.
8. Krahl S.E., Senanayake S.S., Handforth A. // Epilepsy Res. 2000. Vol. 38, N 2-3. P. 171-175.
9. Palmer G.C. // Curr. Drug Targets. 2001. Vol. 2, N 3. P. 241-271.
10. Parsons C.G., Quack G., Bresink I. et al. // Neuropharmacology. 1995. Vol. 34, N 10. P. 1239-1258.
11. Rammes G., Danysz W., Parsons C.G. // Curr. Neuropharmacol. 2008. Vol. 6, N 1. P. 55-78.
12. Rogers M., Rasheed A., Moradimehr A., Baumrucker S.J. // Am. J. Hosp. Palliat. Care. 2009. Vol. 26, N 1. P. 57-59.