

Я. В. Морковина, Ю. В. Семенова, Д. А. Салихов, Д. В. Мальцев, Д. С. Яковлев

Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии;
Волгоградский медицинский научный центр, лаборатория экспериментальной фармакологии

АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ И СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ С АНТИМИГРЕНОЗНЫМИ СВОЙСТВАМИ

УДК 615.214.22:547.785.5

В статье проводится изучение адренергических и серотонинергических свойств молекулы 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2- α]бензимидазола. Полученные данные свидетельствуют о высокой серотонин-блокирующей активности данного соединения в условиях изолированной тест-системы матки крыс, теста 5-ГТФ-гиперкинеза и об отсутствии значимого адreno-блокирующего действия на моделях *in vivo* и *in vitro*.

Ключевые слова: серотонин, 5-HT_{2A}-рецепторы, α -адренорецепторы, 5-ГТФ гиперкинез, резерпиновая гипотермия, изолированные органы.

Ya. V. Morkovina, Yu. V. Semenova, D. A. Salikhov, D. V. Maltsev, D. S. Yakovlev

ADRENERGIC AND SEROTONINERGIC ACTIVITY OF A NEW ANTIMIGRAINE COMPOUND

We studied adrenergic and serotonergic properties of the 9-diethylaminoethyl-2-(4-methoxyphenyl)imidazo[1,2- α]benzimidazole molecule. The compound has been shown to exhibit potent serotonin-blocking activity in the isolated rat uterus and in the 5-HTP-hyperkinesis test. *In vitro* and *in vivo* studies have shown that the compound has weak adreno-blocking activity.

Key words: serotonin, 5-HT_{2A}-receptors, α -adrenoreceptors, 5-HTP-induced hyperkinesis, reserpine-induced hypothermia, isolated organs.

Согласно одной из доминирующих концепций о патогенезе мигрени, выделяется тригеминально-васкулярное и серотонинергическое звено, в качестве основных триггеров приступов этого заболевания [2]. Одним из перспективных направлений разработки новых лекарственных препаратов для профилактики и купирования мигренозных атак представляется воздействие на серотонинергическую мишень – 5-HT_{2A}-рецептор [4]. Считается, что активация данного звена и последующий запуск целого каскада рецепторных реакций опосредует развитие гипералгезии, церебральной вазоконстрикции и, как следствие, возникновение мигренозного приступа. В связи с этим поиск и разработка новых 5-HT_{2A}-антагонистов в качестве корректоров мозгового кровообращения является актуальным направлением в современной экспериментальной фармакологии.

В ранее проведенных нами исследованиях при моделировании мигренозного приступа у крыс было изучено влияние соединения 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2- α]бензимидазола под лабораторным шифром 1b [1] на показатели скорости кровотока в бассейне церебрального микроциркуляторного русла [5]. Полученные данные свидетельствуют о том, что изучаемое соединение устраняет вазоконстрикторные эффекты серотонина

[6]. В связи с тем, что спазмирование краниальных сосудов может быть обусловлено активацией различных рецепторных систем [8], в том числе и адреналиновой системой, а именно альфа-адренорецепторами, становится актуальным изучить возможность влияния соединения 1b на адренергическую систему, и сопоставить данный вид активности с серотонин-блокирующим действием.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние соединения 1b на альфа-адренергический и серотонинергический компоненты сосудистого тонуса крыс в тестах *in vivo* и *in vitro*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили в два этапа. На этапе исследований *in vitro* [Блаттнер с соавт., 1993] соединение 1b было исследовано в тестах фенилэфрин-индуцированного сокращения и 5-HT_{2A}-индуцированного спазма, на препарате изолированной *v. portae* крыс и препарате изолированной матки крыс соответственно. Для исследования использовали 20 крыс линии Wistar, массой 250–280 г. После препаровки органной препарат фиксировали в ванночке для изолированных органов (Ugo Basile, Италия) в буфере Кребса-Хенселейта (для пре-

парата *v. portae*) или буфере Де Жалона (для препарата изолированной матки крысы), pH – 7,4; t = 27 °С, при постоянной оксигенации 95 % O₂ (Кислородный концентратор, Армед, Россия). О влиянии соединения Ib на адренергическую систему судили по способности (в концентрации 1 мкМ) изменять сократительный ответ *v. portae*, вызванный фенилэфрином, (Sigma, США) в концентрации 10 мкМ. В качестве препарата сравнения использовали антагонист α-адренорецепторов фентоламин (Sigma, США). Влияние соединения Ib (1 мкМ) на серотонинергическую систему оценивали по изменению сократительного ответа матки при введении серотонина (Sigma, США) в концентрации 1 мкМ. В качестве препарата сравнения использовали блокатор 5-HT_{2A}-рецепторов – ципрогептадин (Sigma, США), в эквимоллярной дозе.

На втором этапе исследование адренергических и серотонинергических эффектов проводилось в условиях *in vivo* по методикам резерпиновой гипотермии и 5-гидрокситриптофанового (5-ГТФ) гиперкинеза [3, 9].

Для изучения влияния на адренергическую систему использовались крысы-самцы линии Wistar, массой 250–280 г (N = 20). Первой группе животных интрагастрально вводилась дистиллированная вода (интактный контроль). Второй группе вводился симпатолитик – резерпин (Sigma, США) в дозе 2,5 мг/кг внутривентриально и дистиллированная вода в объеме 1 мл интрагастрально. Третья группа вместо воды получала водный раствор соединения Ib в том же объеме, из расчета 10,85 мг/кг веса животного (среднеэффективная доза, демонстрирующая антимигренозный эффект) [4, 6]. Перед началом эксперимента фиксировались исходные показатели ректальной температуры. О влиянии на адренергическую систему судили по выраженности изменений эффекта резерпина (температуры тела и блефароптоза) в интактной, контрольной и опытной группах в контрольной точке 4 часа после его введения.

5-HT_{2A} – опосредованные эффекты исследовались в тесте 5-гидрокситриптофанового (5-ГТФ) гиперкинеза. В качестве индуктора использовался 5-ГТФ (Sigma, США) в дозе 300 мг/кг внутривентриально. Об уровне серотонинергической активности судили по выраженности показателей гиперкинеза, проявлявшегося в спонтанных встряхиваниях головой (твитчингах), в группах контроля, получавшего дистиллированную воду и 5-ГТФ интрагастрально, и опытной, получавшей соединение Ib интрагастрально, в дозе 10,85 мг/кг и 5-ГТФ. Регистрация эффекта проводилась в течение 1 часа после введения анализатора, с интервалами в минуту.

Статистическая обработка данных проводилась в программе GraphPad Prism v5.0 с использованием однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа с посттестом Ньюмена-Кеулса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании адренергической активности соединения Ib на препарате изолированной портальной вены было установлено, что для него, в концентрации 1 мкМ, характерно незначительное снижение выраженности прессорного эффекта фенилэфрина, на (1,5 ± 0,4) %, в отличие от препарата сравнения – фентоламина, для которого в концентрации 1 мкМ наблюдалось снижение данных показателей на (38,4 ± 1,5) % (p < 0,05) (рис. 1).

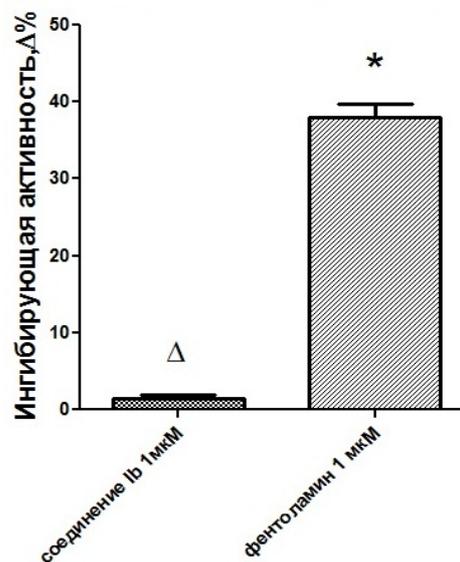


Рис. 1. Влияние соединения Ib на фенилэфрин-индуцированное сокращение *v. portae* крыс (M ± m)

Примечание: * – отличие достоверно относительно показателей контроля, Δ – отличие достоверно относительно препарата сравнения – фентоламина, критерий Ньюмена-Кеулса (p < 0,05).

В условиях серотонин-индуцированной модели спазма было установлено, что соединение Ib в концентрации 1 мкМ снижает выраженность спастического эффекта серотонина на (51,3 ± 2,5) %, не уступая при этом препарату сравнения ципрогептадину в дозе 1 мкМ [48,4 ± 2,5 %] (рис. 2).

Таким образом, на моделях *in vitro* статистически значимого влияния соединения Ib в концентрации 1 мкМ на адренергическую систему не было выявлено, при этом изучаемое соединение оказывало выраженное антисеротониновое действие.

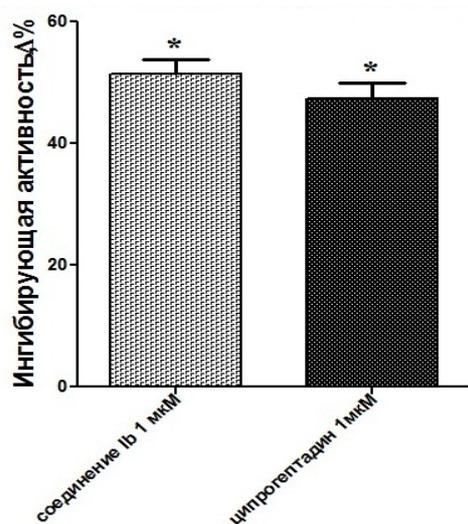


Рис. 2. Влияние соединения Ib на 5-HT_{2A}-опосредованное изменение сократительной способности матки крыс (M ± m)

Примечание: * – отличие достоверно относительно показателей контроля, критерий Ньюмена-Кеулса (p < 0,05).

При исследовании адренергических свойств на модели *in vivo* после введения резерпина в группе контроля наблюдалось развитие гипотермии и блефароптоза. Предварительное введение опытной группе соединения Ib не вызвало статистически значимых различий в данных показателях между группой резерпинового контроля и опытной группой (рис. 3). При этом в группе интактного контроля не наблюдалось развития данных эффектов.

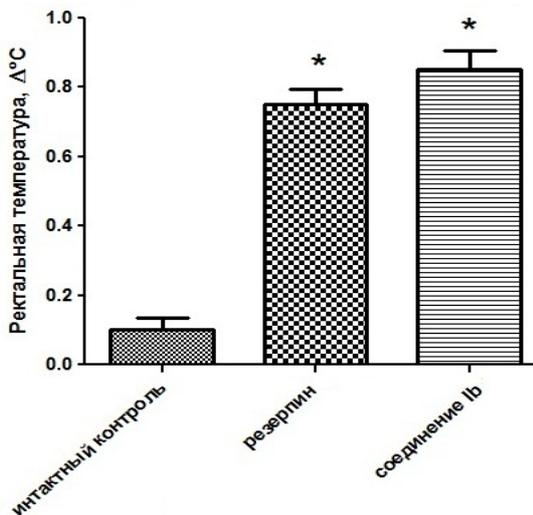


Рис. 3. Влияние соединения Ib на показатели теста «Резерпиновая гипотермия» (M ± m)

Примечание: * – изменение достоверно относительно показателей интактного контроля, критерий Ньюмена-Кеулса (p < 0,05).

При исследовании серотонин-блокирующей активности в тесте 5-ГТФ гиперкинеза

были получены статистически значимые различия в показателях опытной группы по отношению к показателям группы контроля, что подтверждает выраженное влияние соединения Ib на серотониновую систему (рис. 4), которое было также сопряжено с показателем времени. Так, в группе контроля наблюдалось динамическое, статистически значимое нарастание показателей твитчинга, с последующим снижением в период с 30 по 60 мин. В опытной группе наблюдалось достоверное, стойкое проявление серотонин-блокирующей активности, наиболее выраженное в диапазоне с 20 по 30 мин.

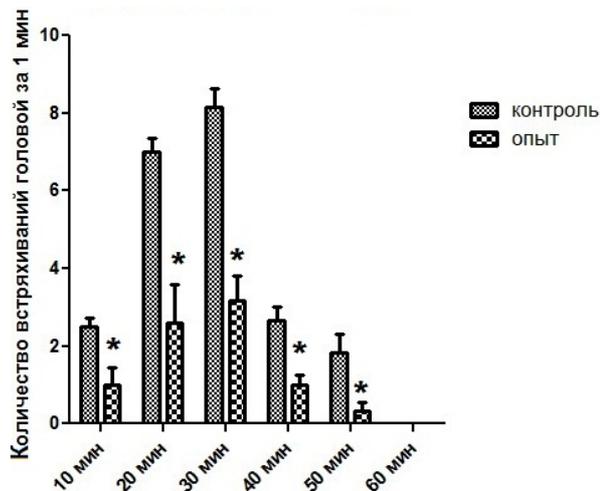


Рис. 4. Влияние соединения Ib на выраженность 5-ГТФ гиперкинеза (M ± m)

Примечание: * – изменение достоверно относительно показателей контроля, двухфакторный дисперсионный анализ (время, вещество) (p < 0,05).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данного исследования было выявлено, что соединение Ib не обладает адренергической активностью, что подтверждается тестами как *in vivo*, так и *in vitro*, в то время, как в отношении серотонинергической системы для данного соединения подтверждена высокая ингибирующая активность. Полученные данные позволяют предположить отсутствие у данного соединения системных адреналин-опосредованных сосудистых свойств, которые являются значимыми побочными эффектами для известных 5-HT_{2A}-антагонистов, таких как ципрогептадин и кетансерин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амелин А. В. Мигрень. Патогенез, клиника, фармакотерапия. – М.: МЕДпресс-информ. – 2011. – 255 с.
2. Волотова Е. В., Филина И. С., Бакулин Д. А. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2016. – Т. 79, № 4. – С. 18–25.

3. *Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. и др.* Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
4. *Морковина Я. В., Яковлев Д. С., Мальцев Д. В., Салихов Д. А.* // Научно-практический журнал «Фармакология и фармация». – 2015. – Т. 3, № 1. – С. 76–77.
5. *Спасов А. А., Гречко О. Ю., Штарёва Д. М. и др.* // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2014. – № 2 (50). – С. 120–122.
6. *Спасов А. А., Мальцев Д. В., Яковлев Д. С., Морковина Я. В.* // Научно-практический журнал «Фармакология и фармация». – 2015. – Т. 3, № 1. – С. 106–107.
7. *Спасов А. А., Яковлев Д. С., Мальцев Д. В. и др.* // Журнал «Биоорганическая химия». – 2016. – Т. 42, № 4. – С. 440–447.
8. Средства, проявляющие свойства антагонистов серотониновых 5-HT_{2A}-рецепторов: пат. 2465901 Рос. Федерация / А. А. Спасов, В. А. Анисимова, Д. С. Яковлев, В. И. Петров, В. И. Минкин // Бюл. – № 31. – 5 с.
9. *Yakovlev D. S., Spasov A. A., Mal'tsev D. V., Anisimova V. A.* // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2014. – Vol. 157, № 3. – С. 350–352.