

**НЕЙРОРЕЦЕПТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ АНТИМИГРЕНОЗНОГО АГЕНТА  
9-ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛ-2-  
(4-МЕТОКСИФЕНИЛ)ИМИДАЗО[1,2-А] БЕНЗИМИДАЗОЛА**

**Я.В. Агацарская<sup>1,2</sup>, Д.С. Яковлев<sup>1,2</sup>, Д.С. Мальцев<sup>1,2</sup>, Ю.В. Семенова<sup>1</sup>, Д.А. Салихов<sup>1</sup>,  
К.Т. Султанова<sup>1</sup>, В.А. Анисимова<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации;

<sup>2</sup>ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр»;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт физической и органической химии  
Южного Федерального университета

Были изучены 5-HT<sub>2A</sub>-антагонистические, М-холинергические, гистаминергические и ГАМК-ергические свойства дигидрохлорида 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-α] бензимидазола – соединения РУ-31 с антимигренозными свойствами. Для соединения РУ-31 на моделях *in vivo* и *in vitro* было показано умеренное М-холиноблокирующее и ГАМК-миметическое действие и отсутствие влияния на гистаминергическую систему.

**Ключевые слова:** 5-HT<sub>2A</sub>-антагонисты, серотонин, М-холинорецепторы, ГАМК-рецепторы, H<sub>1</sub>-гистаминовые рецепторы, H<sub>2</sub>-гистаминовые рецепторы.

DOI 10.19163/1994-9480-2019-1(69)-120-124

**NEURORECEPTOROLOGICAL EFFECTS OF ANTIMIGRAINE AGENT  
9-DIETHYL-2-(4-METHOXYPHENYL)IMIDAZO[1,2-A]BENZIMIDAZOL**

**Ya.V. Agatsarskaya<sup>1,2</sup>, D.S. Yakovlev<sup>1,2</sup>, D.S. Maltsev<sup>1,2</sup>, Yu.V. Semenova<sup>1</sup>, D.A. Salikhov<sup>1</sup>,  
K.T. Sultanova<sup>1</sup>, V.A. Anisimova<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation;

<sup>2</sup>SBI «Volgograd Medical Scientific Centre»;

<sup>3</sup>Research Institute of Physical and Organic Chemistry of Southern Federal University

The 5-HT<sub>2A</sub> antagonistic, M-cholinergic, histaminergic and GABA-ergic properties of 9-diethylaminoethyl-2-(4-methoxyphenyl) imidazo [1,2-α] benzimidazole dihydrochloride – RU-31 compounds with antimigraine properties were studied. Moderate M-anticholinergic and GABA mimetic action and no effect on histaminergic system were shown for RU-31 compound *in vivo* models *in vitro*.

**Key words:** 5-HT<sub>2A</sub>-antagonists, serotonin, M-cholinoreceptors, GABA-receptors, H<sub>1</sub>-histaminoreceptors, H<sub>2</sub>-histaminoreceptors.

В предыдущих исследованиях было выявлено соединение РУ-476 с противомигренозными свойствами [3]. Для него был в ряде тестов широко изучен нейрорецепторный профиль и механизм действия [4]. В дальнейшем было разработано соединение РУ-31, для которого была показана антимигренозная активность [3, 4, 12]. С учетом сложности рецепторного профиля известных противомигренозных препаратов с антисеротониновой активностью, таких как кетансерин [8] и ципрогептадин [11], считавшихся высокоселективными в отношении 5-HT<sub>2A</sub>-рецепторов, для которых в последних исследованиях была показана активность в отношении М-холинорецепторов, гистаминорецепторов и ГАМК-рецепторов, для соединения РУ-31 становится целесообразным более детально изучить рецепторные аспекты механизма действия.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

Изучить возможность взаимодействия нового 5-HT<sub>2A</sub>-антагониста, соединения РУ-31, с холинергической, гистаминергической, адренергической и ГАМК-ергической системами *in vitro* и *in vivo*.

**МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ**

Соединение РУ-31 было синтезировано в лаборатории органического синтеза НИИ ФОХ ЮФУ. Чистота соединения составляла 99,9 %; идентификацию структуры проводили по данным ЯМР, молекулярная масса соединения 453,4; хорошо растворимо в воде [3]. Для исследований *in vitro* использовался серотонин в концентрации 0,1 нМ 100 мкМ (Sigma Aldrich, США), ацетилхолин в 0,1 мкМ (Биосинтез, Россия), гистамин 10 мкМ (Sigma Aldrich, США), атропина сульфат 10 мкМ (Sigma, США), хлоропирамина гидрохлорид 10 мкМ (Борисовский завод медицинских препаратов, Белоруссия), ранитидин 10 мкМ (Биосинтез, Россия). В качестве индукторов тремора или судорог для *in vivo* исследований использовались ареколин и пикротоксин (Sigma Aldrich, США).

На первом этапе производилось изучение возможности проявления разрабатываемым соединением различных рецепторных эффектов на моделях *in vitro* по методике Блаттнера с соавт. [10], с использованием установки для изолированных

органов (UGO BASILE, Италия), при постоянной оксигенации 95 % O<sub>2</sub>, температуре 37 °С и pH = 7,4. Все исследования были выполнены на крысах массой 220–250 г. Инкубация исследуемых веществ составляла 3 мин. Блокирующую активность соединения и препарата сравнения оценивали по изменению сократительного ответа изолированного органа, в ответ на введение индуктора в Δ%.

Изучение 5-HT<sub>2A</sub>-зависимой антисеротониновой активности проводилось на препарате изолированной матки крыс-самок. Исследуемое вещество и препарат сравнения ципрогептадин вводились в эквимоллярных концентрациях – 0,1, 1 и 10 мкМ. Влияние соединения РУ-31 на спазмогенную активность ацетилхолина (М-холинорецепторы) изучали на препарате изолированной подвздошной кишки крыс. Исследуемое вещество вводилось в концентрациях 0,01–100 мкМ.

В качестве препарата сравнения использовался М-холиноблокатор – атропина сульфат в концентрации 10 мкМ. Для изучения Н<sub>1</sub>-гистаминорецепторов использовался препарат изолированной подвздошной кишки, а для Н<sub>2</sub>-гистаминорецепторов – препарат изолированных предсердий. В качестве индуктора брали гистамин (10 мкМ), в качестве препаратов сравнения брали селективный Н<sub>1</sub>-гистаминоблокатор – хлоропирамина гидрохлорид (10 мкМ) и селективный Н<sub>2</sub>-антагонист – ранитидин (10 мкМ).

На втором этапе оценивалась возможность взаимодействия соединения РУ-31 с модуляторами нейромедиаторных систем на моделях *in vivo*.

Исследование взаимодействия соединения РУ-31 с М-холиномиметиком –ареколином *in vivo* проводилось по методу Андреевой Н.И. [7] с использованием беспородных крыс-самцов массой 220–250 г. Соединение РУ-31 вводили интрагастрально в эффективной дозе, выявленной в предыдущих исследованиях, и равной 10 мг/кг за 1 час до введения ареколина (15 мг/кг, внутривентриально), контрольная группа животных получала дистиллированную воду. При проведении теста производилась регистрация латентного периода развития тремора и его длительности.

Влияние соединения РУ-31 на ГАМК-ергическую систему оценивалось в тесте взаимодействия с ГАМК-блокатором – пикротоксином *in vivo* по методу Ворониной Т.А. [7]. Эксперименты были выполнены на 16 мышах, разделенных на 2 группы (1 контрольная, 1 опытная) по 8 животных в каждой. За 1 час до введения пикротоксина (2,5 мг/кг, внутривентриально) животным интрагастрально вводилось соединение РУ-31 в дозе 10 мг/кг, контрольным животным вводилась дистиллированная вода. В течение 1 часа велось наблюдение за животными, при этом отмечался латентный период появления тремора, латентный период развития судорог и количество судорожных приступов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На модели серотонин-индуцированного спазма изолированной матки крыс, для соединения РУ-31 было зарегистрировано статистически значимое ингибирование эффектов серотонина, при этом характер зависимости кривой концентрация – эффект для РУ-31 соответствовал классической кривой обратимого связывания. Рассчитанный показатель отрицательного десятичного логарифма полуэффективной концентрации серотонина в присутствии ингибитора, для соединения РУ-31 в концентрации 1 и 10 мкМ был ниже данного показателя в эквимоллярных концентрациях для препарата сравнения – ципрогептадина (рис.). Это может свидетельствовать о большей 5-HT<sub>2A</sub>-ингибирующей способности изучаемого соединения.

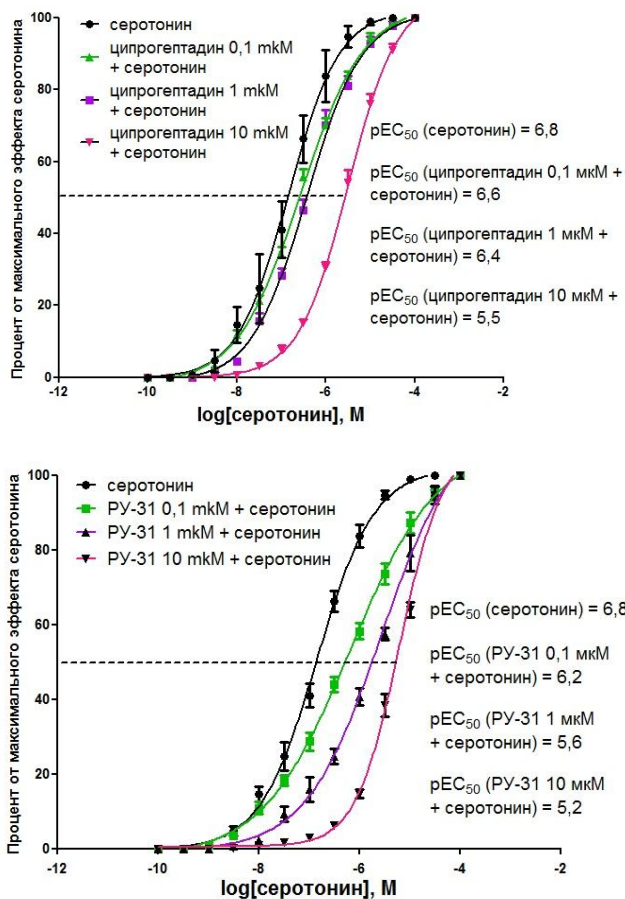


Рис. Серотонин-опосредованное изменение сократительной активности матки крыс, в присутствии РУ-31 и ципрогептадина. Данные в фиксированных точках представлены в виде  $M \pm m$

Также на модели *in vitro* была выявлена способность соединения РУ-31 блокировать спазм подвздошной кишки, индуцированный ацетилхолином. Данный эффект являлся дозозависимым, но при этом статистически значимо

уступал показателям препарата сравнения – атропина. В концентрациях 0,1 мкМ и 0,01 мкМ для соединения РУ-31 не было выявлено статистически значимых отличий от показателей контрольных измерений. На основании полученных данных была рассчитана величина  $IC_{50}$ , которая составила 5,1. Для препарата сравнения – ципрогептадина также имеются данные о наличии умеренной М-холиноблокирующей активности [11].

Исследование гистаминоблокирующей активности показало, что в отношении Н1-рецепторов минимальная активная концентрация для соединения РУ-31 составила 10 мкМ, а в отношении

Н2-рецепторов – 100 мкМ, но при этом показатели изучаемого вещества статистически значимо уступали показателям препаратов сравнения – хлоропирамина гидрохлорида и ранитидина. Для препарата сравнения – ципрогептадина, характерная Н1-гистаминблокирующая активность с величиной  $pK_i = 10,2$  [6], за счет которой при длительном применении данного препарата наблюдается ряд побочных эффектов, таких как сонливость, заторможенность и тахикардия. При этом для ципрогептадина Н2-гистаминблокирующая активность не характерна [7], табл. 1.

Таблица 1

**Гистаминергическая активность РУ-31 в тестах *in vitro***

Вещество	Н1-гистаминблокирующая активность		Н2-гистаминблокирующая активность	
	концентрация, мкМ	активность, Δ%	концентрация, мкМ	активность, Δ%
РУ-31	0,1	0,3 ± 0,2#	0,1	0,0 ± 0,4°
	1	1,8 ± 0,5#	1	1,6 ± 0,4°
	10	18,6 ± 1,3*#	10	3,6 ± 0,7°
	100	27,0 ± 1,7*#	100	27,7 ± 1,6*°
Хлоропирамина гидрохлорид	10	58,0 ± 1,6*	–	–
Ранитидин	–	–	10	63,7 ± 4,2

\*Изменение достоверно относительно показателей контроля ( $p < 0,05$ ); #изменение достоверно относительно показателей хлоропирамина гидрохлорида 10 мкМ ( $p < 0,05$ ); °изменение достоверно относительно показателей ранитидина 10 мкМ ( $p < 0,05$ ).

Примечание. Данные представлены в виде  $M \pm m$ . Статистическая обработка GraphPad Prism v.5.0. с использованием однофакторного дисперсионного анализа с критерием Ньюмена-Кеулса.

На втором этапе исследования, для уточнения М-холиноблокирующей активности в условиях целостного организма были проведены тесты *in vivo* с ареколином. Длительность ареколин-индуцированного тремора у группы, получавшей соединение РУ-31, сократилась в 1,5 раза и достоверно отличалась от показателей группы контроля ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). Полученные данные подтверждают наличие умеренной М-холиноблокирующей активности у соединения РУ-31. Далее производилось изучение взаимодействия соединения РУ-31 с ГАМК-блокатором –

пикротоксином *in vivo*. Установлено, что различия группы контроля и группы, получавшей соединение РУ-31 в следующих показателях: время развития тремора, время развития судорог и количества судорожных припадков, статистически достоверны (табл. 3).

При этом, по литературным данным, для ципрогептадина не характерно собственное влияние на ГАМКА-рецепторы, но есть данные о его серотонин-опосредованных эффектах на ГАМК-систему, через блокаду 5-HT2-рецепторов [6].

Таблица 2

**Влияние соединения РУ-31 на показатели теста «ареколиновый тремор» и «пикротоксиновые судороги»**

№	Группа	«Ареколиновый тремор»		«Пикротоксиновые судороги»		
		время развития эффекта, с	Длительность эффекта, с	время развития тремора, мин	время развития судорог, мин	количество судорожных припадков
1	Контроль	57,50 ± 4,35	1235,00 ± 55,38	3,0 ± 0,3	10,1 ± 0,4	4,9 ± 0,6
2	РУ-31 + индуктор	57,90 ± 2,42	956,4 ± 29,5*	6,2 ± 0,4#	30,8 ± 6,6#	0,90 ± 0,23#

\*Различие достоверно относительно показателей группы, получавшей ареколин, непарный t-тест Стьюдента ( $p < 0,05$ ); #различие достоверно относительно показателей группы, получавшей пикротоксин, непарный t-тест Стьюдента ( $p < 0,0001$ ).

Примечание. Данные представлены в виде  $M \pm m$ .

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В проведенной серии экспериментов, для соединения РУ-31, с ранее показанной антисеротониновой активностью на модели сосудистого спазма, было подтверждено наличие выраженной 5-HT2A – опосредованной антисеротониновой активности *in vitro*. При этом для данного соединения форма кривой зависимости концентрация-эффект соответствует классическому виду кривой обратимого связывания. Однако необходимо отметить, что на основании литературных данных существует взаимосвязь между серотониновыми рецепторами 2A типа и ГАМК-рецепторами, которая была показана для препарата сравнения ципрогептадина в ряде литературных источников [6].

Таким образом, активность в отношении ГАМК-системы, наблюдаемая в тесте «пикротоксиновые

судороги», может быть результатом опосредованной активации интернейронов, продуцирующих ГАМК, через блокаду 5-HT2A-рецепторов [5], в связи с чем возникает необходимость дальнейшего, более детального изучения влияния данного соединения на ГАМК-систему. Для М-холинорецепторов информация о возможной активации через серотониновые 2A рецепторы отсутствует.

При этом отсутствие гистаминергической активности, характерной для известного противомигренозного агента ципрогептадина, вызывающей наличие ряда центральных нейротропных побочных эффектов, таких как седация, сонливость и тахикардия, вероятно, может свидетельствовать о более безопасном токсикологическом профиле соединения РУ-31 (табл. 3).

Таблица 3

**Рецепторный профиль соединения РУ-31**

Вид активности	Наличие активности у соединения РУ-31
5-HT2A-блокирующая активность	+++
M-холиноблокирующая	++
H1-гистаминоблокирующая	+
H2-гистаминоблокирующая	-
ГАМК-миметическая	+

Примечание. - – отсутствие статистически значимой активности; + – слабая активность, значительно уступающая показателям препарата сравнения; ++ – умеренная активность, уступающая препарату сравнения в эквимольных концентрациях; +++ – выраженная активность, не уступающая препаратам сравнения.

Таким образом, для соединения РУ-31 подтверждена 5-HT2A-блокирующая активность, умеренная M-холиноблокирующая активность, ГАМК-миметическая активность, слабая H1-гистамин-блокирующая активность и отсутствует H2-гистаминблокирующая активность.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Блаттнер Р. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц / Р. Блаттнер, Х. Классен, Х. Денерт, Х. Дёринг; пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – 208 с.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунатян и др. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
- Спасов А.А., Анисимова В.А., Яковлев Д.С., Петров В.И., Минкин В.И. Средства, проявляющие свойства антагонистов серотониновых 5-HT2A-рецепторов: пат. 2465901 РФ: А61Р43, А61К31/4188; № 2011104264; заявл. 07.02.11; опубл. 10.11.12, бюл. № 31.
- Яковлев Д.С. Конденсированные азолы – новый класс лигандов серотониновых рецепторов: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Волгоград, 2016.
- Abi-Saab W.M. 5-HT2 receptor regulation of extracellular GABA levels in the prefrontal cortex // *Neuropsychopharmacology*. – 1999. – Jan; № 20 (1). – P. 92–6.
- Haitao Wang. 5-HT2 receptors mediate functional modulation of GABA receptors and inhibitory synaptic

- transmissions in human iPS-derived neurons // *Scientific Reports*. – 2016. – Article number: 20033.
- Guide to Pharmacology [Electronic resource]. URL: <http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/LigandDisplayForward?tab=biology&ligandId=277>.
- Marwood J. Influence of alpha 1-adrenoceptor antagonism of ketanserin on the nature of its 5-HT2 receptor antagonism // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 1994. – № 21 (12). – P. 955–961.
- Sattigeri B.M. Effect of picrotoxin and cyproheptadine pretreatment on sodium valproate induced wet dog shake behavior in rats // *Int. J. Biol. Med. Res.* – 2012. – № 3 (2). – P. 1606–1608.
- Spasov A.A. The derivatives of imidazo[1,2-a]benzimidazole as 5-ht2a receptor antagonists // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. – 2016. – Vol. 42, № 4. – P. 397–403.
- Stanton T. Antagonism of the five cloned human muscarinic cholinergic receptors expressed in CHO-K1 cells by antidepressants and antihistaminics // *Biochem. Pharmacol.* – 1993. – № 45 (11). – P. 2352–2354.
- Yakovlev D.S. Effect of 5-ht2a receptor antagonists on blood flow in the carotid vessels upon elevation of serotonin level // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2014. – № 3, Vol. 157. – P. 350–352.

**REFERENCES**

- Blattner R. Eksperimenty na izolirovannyh preparatah gladkih myshc [Experiments on isolated smooth muscle preparations]. Moscow: Mir, 1983. 208 p.

2. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. CHast' pervaya [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part One]. In A.N. Mironov, N.D. Bunatyan (ed.). Moscow: Grif i K, 2012. 944 p.
3. Spasov A.A., Anisimova V.A., YAKovlev D.S., Petrov V.I., Minkin V.I. Sredstva, proyavlyayushchie svoystva antagonistov serotoninovykh 5-HT<sub>2A</sub>-receptorov [Agents showing the properties of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonists]: pat. 2465901 RF: A61P43, A61K31/4188; № 2011104264; zayavl. 07.02.11; opubl. 10.11.12, byul. № 31.
4. YAKovlev D.S. Kondensirovannyye azoly – novyy klass ligandov serotoninovykh receptorov. Avtoref. dis. dokt. med. nauk [Condensed azoles – a new class of serotonin receptor ligands. Dr. Sci. (Medicine) Thesis]. Volgograd, 2016.
5. Abi-Saab W.M. 5-HT<sub>2</sub> receptor regulation of extracellular GABA levels in the prefrontal cortex. Neuropsychopharmacology, 1999, Jan; no.20 (1), pp. 92–6.
6. Haitao Wang. 5-HT<sub>2</sub> receptors mediate functional modulation of GABA receptors and inhibitory synaptic transmissions in human iPS-derived neurons. Scientific Reports, 2016, Article number: 20033.
7. Guide to Pharmacology [Electronic resource]. URL: <http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/LigandDisplayForward?tab=biology&ligandId=277>.
8. Marwood J. Influence of alpha 1-adrenoceptor antagonism of ketanserin on the nature of its 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonism. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 1994, no 21 (12), pp. 955–961.
9. Sattigeri B.M. Effect of picrotoxin and cyproheptadine pretreatment on sodium valproate induced wet dog shake behavior in rats. Int. J. Biol. Med. Res, 2012, no. 3 (2), pp. 1606–1608.
10. Spasov A.A. The derivatives of imidazo[1,2-a]benzimidazole as 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonists. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2016, Vol. 42, no. 4, pp. 397–403.
11. Stanton T. Antagonism of the five cloned human muscarinic cholinergic receptors expressed in CHO-K1 cells by antidepressants and antihistaminics. Biochem. Pharmacol, 1993, no. 45 (11), pp. 2352–2354.
12. Yakovlev D.S. Effect of 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonists on blood flow in the carotid vessels upon elevation of serotonin level. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2014, no. 3, Vol. 157, pp. 350–352.

**Контактная информация**

**Агацарская Яна Владимировна** – ассистент кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: [yamorok@gmail.com](mailto:yamorok@gmail.com)