

УДК 544.165

НОВЫЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ МОДУЛЯТОР АМРА-РЕЦЕПТОРОВ: ИССЛЕДОВАНИЯ *in vitro* И *in vivo*

В. В. Григорьев¹, М. И. Лавров^{1,2}, В. Л. Замойский^{1,*}, Т. Л. Гарифова³, В. А. Палюлин^{1,2},
член-корреспондент РАН С. О. Бачурин¹

Поступило 15.03.2019 г.

Исследовано в электрофизиологических экспериментах новое производное 3,7-диазабицикло[3.3.1] nonана, показавшее высокую активность как положительный аллостерический модулятор АМРА-рецепторов ЦНС. В дозах 0,01 мг/кг это соединение существенно улучшало память экспериментальных животных, нарушенную максимальным электрошоком. Полученные результаты свидетельствуют, что данное соединение является перспективным кандидатом для проведения доклинических и клинических исследований в качестве средства для лечения ряда психоневрологических заболеваний.

Ключевые слова: АМРА-рецептор, положительные аллостерические модуляторы, электрофизиологические исследования, patch-clamp, антиамнестическое действие.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524882217-220>

Глутаматергическая система играет чрезвычайно важную роль в функционировании центральной нервной системы млекопитающих [1]. АМРА-рецепторы (α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионатсвязывающие рецепторы) являются одним из подтипов ионотропных глутаматных рецепторов, принимающих непосредственное участие в процессах формирования когнитивных функций и памяти [2, 3]. Положительные аллостерические модуляторы АМРА-рецепторов (ПАМ) привлекают большое внимание исследователей, поскольку способны улучшать процессы обучения и формирования памяти, что делает их перспективными кандидатами в лекарственные препараты для лечения когнитивных расстройств, в том числе болезни Альцгеймера [4, 5], а также депрессии и ряда других патологий [6, 7]. Учитывая крайне ограниченный набор лекарств для лечения нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Альцгеймера и других форм деменций, поиск и создание новых ПАМ с высокой активностью и специфичностью является крайне актуальной задачей.

Ранее нами на основании данных по молекулярному моделированию взаимодействия различных ПАМ с аллостерическим сайтом связывания АМРА-рецептора была синтезирована группа новых оригинальных производных 3,7-диазабицикло[3.3.1]

nonанов, среди которых соединение 1 (рис. 1) оказалось одним из наиболее активных на сегодняшний день положительных модуляторов АМРА-рецепторов [8]. Дальнейшая оптимизация структуры соединения 1 с учётом биодоступности веществ [9] позволила существенно улучшить его фармакокинетические характеристики, что привело к новому соединению-лидеру – веществу 2 (рис. 1). Так, период полувыведения препаратов 1 и 2 в дозах 1 мг/кг перорально составляет 38 ± 2 и 164 ± 3 мин соответственно.

В настоящей работе проведено исследование электрофизиологических характеристик препарата 2 и его влияния на память в поведенческих экспериментах на животных.

Эксперименты по оценке действия вещества 2 на АМРА-рецепторы были проведены методом patch-clamp на свежеизолированных нейронах Пуркинье, как это ранее было описано в [8].

Аппликация кайновой кислоты (КК) вызывала в нейронах Пуркинье трансмембранные входящие токи. Мы обнаружили, что добавление в перфузируемый раствор соединения 2 приводит к зависимости от концентрации 2 увеличению амплитуды токов (рис. 2). Этот эффект был зарегистрирован в диапазоне очень низких концентраций соединения 2: 10^{-11} – 10^{-8} М. При использовании больших концентраций 2 значения амплитуды токов возвращались к контрольному уровню, как это было и в случае соединения 1 [8].

Для оценки антиамнестических свойств 2 использовали методику амнезии условной реакции пассивного избегания (УРПИ) у крыс, вызванной

¹ Институт физиологически активных веществ Российской Академии наук, Черноголовка Московской обл.

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

³ Научно-исследовательский институт фармакологии им. В. В. Закусова, Москва

*E-mail: vzam@yandex.ru

Таблица 1. Антиамнестический эффект соединения 2 на модели амнезии, вызванной максимальным электрошоком (методика УРПИ)

Группа животных	Доза, мг/кг внутрибрюшинно	Обучение	Воспроизведение УРПИ через 24 ч после обучения		
		Латентное время рефлекса, с	Латентное время рефлекса, с	Время нахождения на светлой площадке	Количество животных, не зашедших в тёмную камеру, %
Интактные	—	22±5	161±20	178±3	100
Контроль с МЭШ (120 В)	—	22±5	54±23	84±25 [#]	30 ^{\$}
Соединение 2	0,1	17±3	117±27	121±21	50
	0,05	15±4	75±23	120±19	50
	0,01	19±5	131±25	160±15*	70 ^{&}
Мемантин	2,0	20±4	106±26	138±27	40

Примечания. # – достоверность отличий от интактного контроля при $P \leq 0,05$ (критерий Стьюдента); * – достоверность отличий от контроля с МЭШ при $P \leq 0,05$ (критерий Стьюдента); \$ – достоверность отличий от интактного контроля при $P \leq 0,05$ (критерий X_2); & – достоверность отличий от контроля с МЭШ, при $P \leq 0,05$ (критерий X_2).

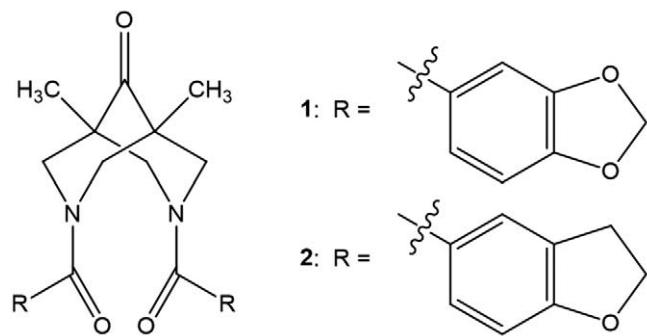


Рис. 1. Структура исследованных соединений 1 и 2. Слева – основа соединения с обозначенными местами присоединения радикалов R; справа – радикалы в случае соединения 1 и 2 соответственно.

максимальным электрошоком (МЭШ) [10]. Выработку экспериментальной амнезии УРПИ с применением МЭШ проводили на стандартной установке пассивного избегания (PassiveAvoidance) фирмы “Lafayette Instrument Co” (США). Максимальный электрошок применяли непосредственно после обучения через корниальные электроды силой тока 43 мА, частота тока 50 Гц, продолжительность 0,3 с. Тест на воспроизведение осуществляли через 24 ч после обучения. Животное помещали на освещенную платформу установки хвостом к входу в тёмную камеру и регистрировали латентный период первого захода в темную камеру. Максимальное время регистрации 3 мин. Исследуемые вещества вводили внутрибрюшинно за 30 мин до обучения.

Показано, что в контрольной группе крыс с МЭШ при воспроизведении УРПИ через 24 ч после обучения всего 30% животных помнили об ударе током и не заходили в темный отсек камеры, тогда как в группе интактных (без МЭШ) животных этот

показатель составлял 100%. При изучении антиамнестических свойств соединения 2 установлено, что вещество в дозе 0,01 мг/кг, при введении животным до обучения УРПИ, статистически достоверно увеличивало как латентное время рефлекса ($P \leq 0,05$), так и количество крыс, не зашедших в тёмную камеру установки ($P \leq 0,05$) (табл. 1). Лекарственный препарат Мемантин, используемый для лечения болезни Альцгеймера, в этих экспериментах в дозе 2 мг/кг улучшал (но не достигал критерия достоверности) воспроизведение рефлекса по количеству животных, не зашедших в темный отсек камеры, и не увеличивал латентное время рефлекса (табл. 1).

Таким образом, соединение 2 обладает выраженным антиамнестическим действием на модели амнезии УРПИ, вызванной МЭШ. Наибольший антиамнестический эффект проявляется в дозе 0,01 мг/кг. С увеличением дозы эффект уменьшается и теряется достоверность различий от контроля. Препарат сравнения Мемантин в многократно большей дозе 2 мг/кг вызывает гораздо меньший эффект, не достигающий уровня достоверных отличий от контроля.

Резюмируя результаты проведённых исследований, можно сделать вывод, что соединение 2 в крайне низкой концентрации проявляет ярко выраженный эффект, свойственный для аллостерических модуляторов AMPA-рецепторов – потенциацию токов этих рецепторов. В поведенческих экспериментах соединение 2 в очень низкой дозе вызывает достоверное улучшение памяти у крыс, подвергшихся МЭШ. По этому эффекту оно существенно превосходит препарат сравнения Мемантин.

Полученные результаты характеризуют соединение 2 как многообещающий кандидат для доклинических и клинических исследований в качестве

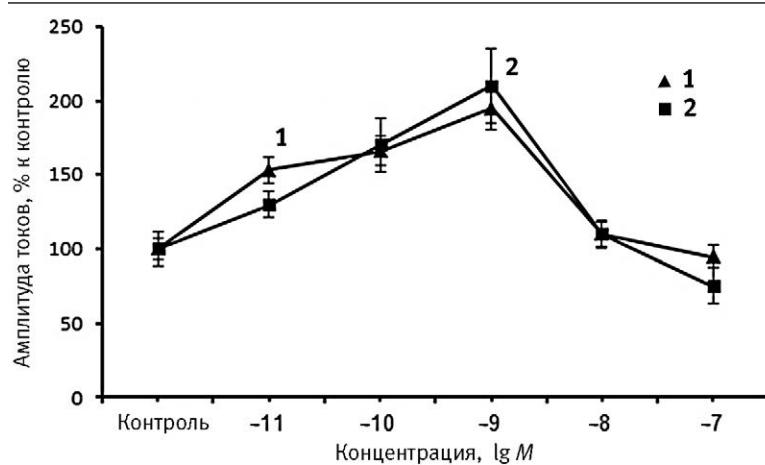


Рис. 2. Потенциация токов АМРА-рецепторов в нейронах Пуркинье мозжечка крыс при действии соединений 1 и 2, исследованных электрофизиологическим методом patch-clamp. По оси ординат указана величина ответа токов АМРА-рецепторов в процентах от контрольных значений. По оси абсцисс указаны контроль и логарифмы концентрации веществ 1 и 2 в эксперименте.

средства для лечения и профилактики нейродегенеративных и психоневрологических заболеваний, связанных с ослаблением памяти, и улучшения когнитивных функций человека.

Благодарности. В работе использовано оборудование ЦКП ИФАВ РАН (Соглашение № 14.621.21.0008, идентификатор работ RFMEFI62114X0008).

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания ИФАВ РАН по теме “Поиск и исследование механизмов действия нейропротекторов и стимуляторов когнитивных функций”, номер государственной регистрации 0090–2019–0005.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Traynelis S.F., Wollmuth L.P., McBain C.J., Menniti F.S., Vance K.M., Ogden K.K., Hansen K.B., Yuan H., Myers S.J., Dingledine R.* // *Pharmacol. Rev.*, 2010. V. 62. P. 405–496.
2. *Adler L.A., Kroon R.A., Stein M., Shahid M., Tarazi F.I., Szegedi A., Schipper J., Cazorla P.* // *Biol. Psychiatry*. 2012. V. 72. № 11. P. 971–977.
3. *Lauterborn J.C., Palmer L.C., Jia Y., Pham D.T., Hou B., Wang W., Trieu B.H., Cox C.D., Kantorovich S., Gall C.M., Lynch G.* // *J. Neurosci.* 2016. V. 36. № 5. P. 1636–1646.
4. *Григорьев В.В., Прошин А.Н., Кинзирский А.С., Бачурин С.О.* // Усп. химии. 2009. Т. 78. № 5. С. 52–534.
5. *Bachurin S.O., Bovina E.V., Ustyugov A.A.* // *Med. Res. Rev.* 2017. V. 37. № 5. P. 1186–1225.
6. *O'Neill M.J., Bleakman D., Zimmerman D.M., Nisenbaum E.S.* // *Current Drug Targets. CNS and Neurological Disorders*. 2004. V. 3. № 3. P. 181–194.
7. *Hu X., Tian X., Guo X., He Y., Chen H., Zhou J., Wang Z.J.* // *Neuropharmacology*. 2018. V. 137. P. 50–58.
8. *Лавров М.И., Григорьев В.В., Бачурин С.О., Палюлин В.А., Зефиров Н.С.* // ДАН. 2015. Т. 464. № 5. С. 626–628.
9. *Perlovich G.L., Proshin A.N., Volkova T.V., Petrova L.N., Bachurin S.O.* // *Molecular Pharmaceutics*. 2012. V. 9. № 8. P. 2156–2167.
10. *Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарипова Т.Л.* // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: изд. ФГБУ «НЦЭМСП» Минздравсоцразвития России. 2012. С. 276–297.

NEW POSITIVE ALLOSTERIC MODULATOR OF AMPA-RECEPTORS: *in vitro* AND *in vivo* STUDIES

V. V. Grigoriev¹, M. I. Lavrov^{1,2}, V. L. Zamoyski¹, T. L. Garibova³, V. A. Palyulin^{1,2},
Corresponding Member of RAS S.O. Bachurin¹

¹*Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences, Chernogolovka,
Moscow region, Russian Federation*

²*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

³*Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russian Federation*

Received March 15, 2019

A new derivative of 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane was studied in electrophysiological experiments, which showed high activity as a positive allosteric modulator of AMPA receptors of the CNS. In doses of 0.01 mg / kg this compound significantly improved the memory of experimental animals disturbed by maximal electric shock. The results indicate that this compound is a promising candidate for preclinical and clinical studies as a treatment for a number of psycho-neurological diseases.

Keywords: AMPA-receptor, positive allosteric modulators, electrophysiological studies, patch-clamp, antiamnesic action.