

УДК 615.2.03

ИЗУЧЕНИЕ КУМУЛЯТИВНЫХ СВОЙСТВ ТАБЛЕТИРОВАННОЙ ФОРМЫ НОВОГО ПРОТИВОМИГРЕНОЗНОГО СРЕДСТВА РУ-31

**В.И. Корнилов¹, Д.С. Яковлев^{1,2}, В.В. Багметова¹, Л.И. Бугаева¹,
А.А. Спасов^{1,2}, А.Ю. Гетманенко¹**

¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации;
²ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр»

Изучены кумулятивные свойства готовой лекарственной формы (ГЛФ) – таблеток 8 мг производного 2-метоксифенил-имидазобензимидазола (РУ-31) для лечения и профилактики мигрени, серотонинозависимых нарушений мозгового кровообращения. Четырехнедельные эксперименты проведены на белых беспородных крысах обоего пола, при внутривенном введении водного раствора ГЛФ РУ-31 в дозах 10 и 100 мг/кг. На 29-й день животным была введена разрешающая доза водного раствора ГЛФ, равная ЛД₅₀. Согласно расчетам, коэффициент кумуляции (КК) составил более 20 у.е., что указывает на отсутствие кумулятивных свойств.

Ключевые слова: мигрень, кумуляция, производное 2-метоксифенил-имидазобензоимидазола, РУ-31.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-4(76)-46-49

CUMULATIVE PROPERTIES OF THE NEW ANTI-MIGRENOUS COMPOUND IN THE TABLET MEDICAL FORM

**V.I. Kornilov¹, D.S. Yakovlev^{1,2}, V.V. Bagmetova¹, L.I. Bugaeva¹,
A.A. Spasov¹, A.Yu. Getmamenko¹**

¹FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;
²SBI «Volgograd Medical Scientific Centre»

Cumulative properties of 2-metoxifenil-imidazobenzimidazole derivative (RU-31) in tablet medical form (8 mg) were studied for development of new drug for migraine treatment. Four-week experiments were carried out on white rats of both sex, with intragastral administration of RU-31 water solution in the doses of 10 mg/kg and 100 mg/kg. On the 29th day the dose of tested compound equal to LD₅₀ was administered to the animals. Due to the calculation of accumulation coefficient (more than 20 units) the tablet form of RU-31 shows the lack of cumulative properties.

Key words: migraine, cumulation, 2-methoxyphenyl-imidazobenzimidazole derivative, RU-31.

Наиболее распространенной формой головной боли является мигрень, которой страдают около 15 % населения [9].

Для купирования приступов мигрени в настоящее время применяются препараты, частота эффективности которых не превышает 60–65 %.

Высокоэффективных профилактических средств этого заболевания на данный момент не существует [2, 6].

Установлено, что на начальной стадии развития приступа мигрени в сыворотке крови увеличивается концентрация медиатора 5-гидрокси-триптамина (серотонина, 5-НТ), высвобождение и его действие на кровеносные сосуды является одним из основных факторов в развитии патологии [8]. Учитывая существенную триггерную роль серотонинового компонента, разрабатывают новый класс лекарственных препаратов – антагонистов 2А подтипа серотониновых рецепторов.

В результате исследований, проведенных ранее в ВолгГМУ, было получено соединение, производное 2-метоксифенила-имидазобензимидазола (РУ-31) с 5-НТ_{2А}-антагонистическим механизмом действия, обладающее противомигренозными свойствами [1, 5, 7].

На основе субстанции РУ-31 разработана твердая пероральная лекарственная форма – «РУ-31, таблетки по 8 мг» (готовая лекарственная форма, ГЛФ), способная устранять серотониновое влияние на сосуды головного мозга [8]. Возможные кумулятивные свойства разрабатываемого лекарственного средства необходимо учитывать для последующего выбора доз при изучении хронической токсичности в рамках расширенного доклинического исследования [6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить кумулятивные свойства готовой таблетированной лекарственной формы разрабатываемого противомигренозного средства РУ-31.

Исследование выполнялось при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного контракта №14.N08.11.0159.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использовали опытный образец ГЛФ РУ-31: таблетки содержащие по 8 мг дигидрохлорида 9-(2-диэтиламиноэтил)-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-а]бензимидазола (РУ-31), произведенные в ПМФИ-филиале ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России 01.2018 г. (протокол анализа № 1 от 23.01.18 г. о проверке качества образца и соответствии лабораторному регламенту № 011962942-005-2017).

Эксперименты проведены на здоровых, беспородных 30 крысах – самцах массой 220–260 г и 30 крысах-самках массой 180–220 г. Животные с учетом пола содержались в стандартных условиях вивария университета, имели доступ к воде и еде *ad libitum*. Условия обращения и содержания используемых в эксперименте животных соответствовали общепринятым этическим нормам и стандартам.

Для проведения исследований были сформированы равнозначные группы контрольных и опытных животных по 10 особей в каждой, в качестве критерия использовали массу тела, так, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения более чем на $\pm 10\%$.

Работа по определению возможной способности ГЛФ РУ-31 к кумуляции проведена в соответствии с рекомендациями, изложенными в действующем руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств [4] с использованием метода Кагана Ю.С. и соавт. [3].

С учетом предполагаемого перорального применения исследуемая ГЛФ РУ-31 вводилась животным ежедневно в утреннее время, в виде водного раствора – внутрижелудочно, с использованием атравматического металлического зонда. Для приготовления раствора навеску тестируемой ГЛФ РУ-31 растворяли в дистиллированной воде непосредственно перед введением экспериментальным группам животных в дозах: 10 мг/кг (соответствует экспериментально доказанной терапевтической дозе), 100 мг/кг (соответствует десятикратной терапевтической дозе и приблизительно 1/10 от ЛД₅₀). По окончании курса введения на 29-й день эксперимента тестируемая ГЛФ РУ-31 была введена экспериментальным и контрольным животным в разрешающей дозе, равной ЛД₅₀: 932 мг/кг – для самцов; 627,5 мг/кг – для самок. Контрольной группе животных проводилось ежедневное внутрижелудочное введение дистиллированной воды в объеме 5 мл/кг в течение 4 недель (28 дней).

В ходе эксперимента наблюдали за общим состоянием и поведением животных, приемом корма и воды, состоянием шерстяного покрова, массой тела.

Результаты исследований оценивались на следующий день после введения разрешающей дозы ГЛФ РУ-31. При этом учитывалось количество погибших и выживших животных в период 4-недельного курса введения, а также после введения дозы ГЛФ РУ-31, равной величине ЛД₅₀.

Критерием эффективности в исследовании являлся коэффициент кумуляции (КК), который рассчитывался с учетом суммарных данных гибели животных, зафиксированной в период 4-недельного курса введения тестируемой ГЛФ, а также на второй день после введения ГЛФ РУ-31 в разрешающей дозе, с использованием формулы [3]:

$$КК = (DS / ЛД_{50}) \times (50 / N \times A),$$

где КК – коэффициент кумуляции;

DS – суммарная доза ГЛФ для павших и выживших животных;

ЛД₅₀ – уровень среднесмертельной дозы ГЛФ РУ-31;

N – число животных в группе;

A – процент погибших животных.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Значимость различий определяемых показателей в экспериментальных группах от соответствующих показателей в контрольной выборке оценивали с помощью t-критерия Стьюдента – Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенных исследований установлено, что общее состояние животных, получавших ГЛФ РУ-31 в дозах 10 и 100 мг/кг внутрижелудочно в течение 4 недель, существенно не различалось с состоянием животных контрольной группы.

Шерстный покров у животных в экспериментальных и контрольных группах был чистый и гладкий, кожные покровы и видимые слизистые чистые, физиологической окраски. В поведении животных каких-либо изменений не зафиксировано.

Измерения массы тела у животных (табл. 1) в опытных и контрольных группах показали положительную динамику прироста данного показателя. Прирост массы тела у животных в экспериментальных группах не имел статистически значимых различий с данным показателем контрольных животных.

Результаты исследования кумулятивных свойств ГЛФ РУ-31 представлены в табл. 2.

Как видно из приведенных данных, у животных по окончании 4-недельного курса гибель

крыс (1 самка) была единичной и фиксировалась лишь во 2-й экспериментальной группе.

У крыс в 1-й экспериментальной группе и у контрольных – погибших особей не обнаружено.

Таблица 1

Динамика прироста массы тела у крыс, получавших ГЛФ РУ-31 внутрижелудочно в течение 28 дней (г, $M \pm m$)

Период измерения, дни	Группа контроля	Группы, получавшие ГЛФ РУ-31, мг/кг	
		10	100
<i>Крысы-самцы</i>			
1 (исходные значения)	248,30 ± 6,78	245,80 ± 7,35	248,80 ± 6,97
7	249,80 ± 6,59	251,80 ± 7,82	254,00 ± 6,98
14	258,00 ± 6,57	257,80 ± 7,46	259,80 ± 6,87
21	268,60 ± 7,11*	266,40 ± 6,29*	263,60 ± 7,03
28	278,60 ± 7,02**	273,80 ± 7,31*	272,80 ± 6,59*
Общий прирост массы тела, %	14,3	11,4	9,65
<i>Крысы-самки</i>			
1 (исходные значения)	224,40 ± 5,14	219,20 ± 3,44	222,20 ± 7,03
7	227,80 ± 4,98	221,2 ± 3,8	226,80 ± 7,42
14	235,40 ± 5,05	229,60 ± 4,17	232,80 ± 7,59
21	241,20 ± 5,19*	237,40 ± 4,06**	238,20 ± 7,17
28	249,80 ± 5,57**	242,00 ± 4,93**	243,40 ± 7,12*
Общий прирост массы тела, %	11,3	10,4	9,54

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – различия статистически значимы по сравнению с исходными значениями.

По окончании 4-недельного курса, на 29-й день эксперимента всем оставшимся в живых животным было проведено введение ГЛФ РУ-31 в дозе, равной ЛД₅₀.

На 30-й день эксперимента отмечено наличие 50%-й гибели у крыс в контрольной группе и у крыс в 1-й экспериментальной группе, а также 50%-я гибель у крыс самцов и 40%-я гибель у крыс самок во 2-й экспериментальной группе.

Таблица 2

Выживаемость животных при кумулятивном введении ГЛФ РУ-31

Дни наблюдений	Гибель животных в исследуемых группах, n погибших/всего в группе, мг/кг		
	Контрольная группа	Группа-1, ГЛФ РУ-31, 10	Группа-2, ГЛФ РУ-31, 100
<i>Крысы-самцы</i>			
1–7	0/10	0/10	0/10
8–14	0/10	0/10	0/10
15–21	0/10	0/10	0/10
22–28	0/10	0/10	0/10
Суммарная гибель – 28 дней	0/10	0/10	0/10
Введение разрешающей дозы ГЛФ РУ-31 на 29-й день	932 мг/кг		
Гибель в группах от введения разрешающей дозы	5/10	5/10	5/10
Суммарная гибель – 30 дней	5/10	5/10	5/10
Коэффициент кумуляции, у. е.	27,86	27,77	94,83
<i>Крысы-самки</i>			
1–7	0/10	0/10	0/10
8–14	0/10	0/10	0/10
15–21	0/10	0/10	1/10
22–28	0/10	0/10	0/9
Суммарная гибель – 28 дней	0/10	0/10	0/9
Введение разрешающей дозы ГЛФ РУ-31 на 29-й день	627,5 мг/кг		
Гибель в группах от введения разрешающей дозы	5/10	5/10	3/9
Суммарная гибель – 30 дней	5/10	5/10	4/10
Коэффициент кумуляции, у. е.	24,98	33,09	91,79

В результате анализа полученных данных выявлено, что значения КК, рассчитанные для самцов и самок крыс контрольных и экспериментальных групп, оказались более 20 у. е., что согласно использованному методу определения [3] и позволяет считать, что у исследуемой ГЛФ РУ-31 отсутствуют кумулятивные свойства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований можно сделать заключение, что суммарная гибель животных по окончании 4-недельного внутрижелудочного введения ГЛФ РУ-31 по кумулятивной

схеме в дозах 10 и 100 мг/кг не различается с данными контроля. Суммарная гибель животных в опытных и контрольной группах после введения разрешающей дозы ГЛФ РУ-31, равной ЛД₅₀, существенно не различается.

Таким образом, установлено, что для ГЛФ РУ-31 при внутрижелудочном введении крысам не характерно наличие кумулятивных свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агацарская Я.В., Яковлев Д.С., Мальцев Д.С. и др. Нейрорецепторные эффекты антимигренозного агента 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-а]бензимидазола // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2019. – Т.69, № 1. – С. 120–124.
2. Дубенко О.Е., Сотников Д.Д. Профилактическое лечение мигрени: вчера, сегодня, завтра // Головная боль (тематический номер). – 2009.
3. Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов. – Киев: Здоров'я, 1981. – 210 с.
4. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., Бондарев В.П. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
5. Спасов А.А., Анисимова В.А., Яковлев Д.С. и др. Средства, проявляющие свойства антагонистов серотониновых 5-HT_{2A} рецепторов: пат. 2465901 РФ; № 2011104264, заявл. 07.02.11. – Оpubл. 10.11.12. – Бюл. № 31.
6. Спасов А.А., Яковлев Д.С., Бригадирова А.А. и др. Современные направления разработки новых средств для лечения мигрени. Акцент на антагонисты 5-HT_{2A}-рецепторов // Биоорганическая химия. – 2019. – Т. 45, № 3. – С. 238–251.
7. Степанова Э.Ф., Курегян А.Г., Спасов А.А. и др. Фармацевтическая композиция противомигренозного действия в твердой лекарственной форме в виде таблеток: пат. 26968866 РФ; № 219106339, заявл. 05.03.19. – Оpubл. 07.08.19. – Бюл. № 22.
8. Adams J.W., Ramirez J., Ortuno D., et al. Anti-thrombotic and vascular effects of AR246686, a novel 5-HT_{2A} receptor antagonist // European Journal of Pharmacology. – 2008. – Vol. 586, Issue 1-3. – P. 234–243.
9. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // Lancet. – 2016. – Vol. 388. – P. 1545–1602.

REFERENCES

1. Agacarskaya Ya.V., Yakovlev D.S., Mal'cev D.V., et al. Nociceptive effects of antimigraine agent 9-diethylaminoethyl-2-(4-metoxifenil)imidazo[1,2-a]benzimidazole [Nejroreceptornye efekty antimagrenoznogo agenta 9-dietilaminoetil-2-(4-metoksifenil)imidazo[1,2-a]benzimidazola]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Volgograd State Medical University], 2019, no. 1 (69), pp. 120–124. (In Russ.; abstr. in Engl.).
2. Dubenko O.E., Sotnikov D.D. Profilakticheskoe lechenie migreni: vchera, segodnya, zavtra [Prophylactic treatment of migraine: yesterday, today, tomorrow]. *Golovnaya bol' (tematicheskij nomer)* [Headache (thematic issue)], 2009. (In Russ.; abstr. in Engl.).
3. Kagan Yu.S. *Obshchaya toksikologiya pesticidov* [Basic toxicology of pesticides]. Kiev: Zdorov'ya, 1981. 210 p. (In Russ.; abstr. in Engl.).
4. Mironov A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv*. Ch. 1 [Preclinical Drug Research Guide. Part 1]. Moscow: Grif i K, 2012. 944 p. (In Russ.; abstr. in Engl.).
5. Spasov A.A., Anisimova V.A., Yakovlev D.S., et al. *Sredstva, proyavlyayushchie svoystva antagonistov serotoninovykh 5-HT_{2A}-receptorov* [Compounds demonstrating 5-HT_{2A}-antagonistic properties]: patent 2465901 RF; No. 2011104264, application 07.02.11. Published on November 10, 2012. Bulletin No. 31. (In Russ.; abstr. in Engl.).
6. Spasov A.A., Yakovlev D.S., Brigadirova A.A., et al. *Sovremennye napravleniya razrabotki novykh sredstv dlya lecheniya migreni. Akcent na antagonisty 5-HT_{2A}-receptorov* [Novel Approaches to the Development of Antimigraine Drugs: A Focus on 5-HT_{2A} Receptor Antagonists]. *Bioorganicheskaya himiya* [Bioorganic chemistry], 2019, vol. 3, no. 45, pp. 238–251. (In Russ.; abstr. in Engl.).
7. Stepanova E.F., Kuregyan A.G., Spasov A.A., et al. *Farmaceuticheskaya kompozitsiya protivomigrenoznogo dejstviya v tverdoj lekarstvennoj forme v vide tabletok* [Pharmaceutical composition of antimigraine drug in medical form of tablets]: patent 26968866 RF; No. 219106339, application 05.03.19. Published on 08/07/19. Bulletin No. 22. (In Russ.; abstr. in Engl.).
8. Adams J. W. Anti-thrombotic and vascular effects of AR246686, a novel 5-HT_{2A} receptor. *European Journal of Pharmacology*, 2008, no. 1-3, Issue 586, pp. 234–243.
9. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*, 2016, vol. 388, pp. 1545–1602.

Контактная информация

Яковлев Дмитрий Сергеевич – д. м. н., доцент кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: dypharm@list.ru