

УДК: 615.038



## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАПИТАЛАМА НА ОКСОТРЕМОРИН-ИНДУЦИРОВАННЫЙ ТРЕМОР

Н.В. Авдеева

ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет  
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

E-mail:

Поступила в редакцию: 04.12.18

Принята к печати: 03.03.2019

**Аннотация.** Во всем мире идет поиск новых препаратов для лечения болезни Паркинсона, которая является вторым по распространенности нейродегенеративным заболеванием после болезни Альцгеймера. До настоящего времени «идеального» лекарственного средства, обладающего минимальными побочными эффектами и способного полностью вылечить пациентов с данным заболеванием, не существует. В научно-исследовательском институте «Фармакология живых систем» (г. Белгород) изучается новое лекарственное средство для лечения дрожательной формы болезни Паркинсона – Рапиталам, механизм действия которого заключается в активации метаботропных рецепторов группы mGluR4.

**Цель** – изучить влияние Рапиталама на оксотреморин-индуцированный тремор у крыс.

**Методы.** В исследование было включено 60 крыс мужского пола, которые были разделены на 6 групп по 10 особей. Животным внутривенно в течение 10 дней вводили исследуемые соединения. Всем группам животных, кроме группы Контроль 1, через 30 мин после введения Рапиталама и препарата сравнения Леводопа внутривенно вводили раствор оксотреморина в дозе 1,5 мг/кг. Животным из группы Контроль 1 аналогичным образом вместо оксотреморина вводили растворитель (0,9% раствор натрия хлорида) эквивалентном объеме.

**Результаты.** Введение крысам исследуемого соединения Рапиталам в дозе 3 мг/кг вызывало достоверное в сравнении с группой контроля снижение выраженности тремора через 50 мин, в дозе 10 мг/кг уже через 30 мин после введения оксотреморина. Также введение Рапиталама в дозе 3 и 10 мг/кг приводило к уменьшению количества крыс (выраженное в %) в группе с проявлениями тремора через 60 мин и 50 мин соответственно.

**Заключение.** В результате исследования выявлено, что Рапиталам обладает выраженным антитреморным эффектом, что подтверждалось снижением проявлений оксотреморин-индуцированного тремора у крыс после введения исследуемого препарата.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, mGluR4, Рапиталам, оксотреморин-индуцированный тремор, Леводопа

## STUDY OF RAPITALAM INFLUENCE ON OXOTREMORINE-INDUCED TREMOR

N.V. Avdeeva

Belgorod National Research University  
85, Pobeda St., Belgorod, Russia, 308015

E-mail:

Received: 04.12.18

Accepted for publication: 03.03.2019

Parkinson's disease is the second most common (after Alzheimer's) neurodegenerative disease. All over the world, there is a search for new drugs aimed at the treatment of Parkinson's disease. Till up to the present, there is no "ideal" medicine that can completely cure this disease and has minimal adverse side effects. Belgorod research institute of pharmacology of living systems is studying Rapitalam, a new drug for the treatment of tremulous Parkinson's disease. This is an agonist of the mGluR4 group of metabotropic receptors.

**Для цитирования:** Н.В. Авдеева. Изучение влияния рапиталама на оксотреморин-индуцированный тремор. *Фармация и фармакология*. 2019;7(2): 84-89. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-2-84-89

© Н.В. Авдеева, 2019

**For citation:** N.V. Avdeeva. Study of rapitalam influence on oxotremorine-induced tremor. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(2): 84-89. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-2-84-89

**The aim** of the article is to study Rapitalam influence on the oxotremorine-induced tremor in rats.

**Methods.** The study comprised 60 rats (6 groups of 10 males), which were administered intragastrically with the studied substances for 10 days. All the animal groups except Control group 1, were administered with Rapitalam and the reference drug Levodopa. 30 minutes after Rapitalam and Levodopa, they were administered abdominally with the solution of Oxotremorine at the dose of 1.5 mg/kg. The animals of Control group 1, instead of Oxotremorine, were similarly administered with a solvent of 0.9% sodium chloride in the equivalent volume.

**Results.** In comparison with the reference group, Rapitalam at the dose of 3 mg/kg significantly reduced the severity of tremor 50 min. after its administration. The same effect took place 30 min after the administration of Oxotremorine at the dose of 10 mg/kg. At the dose of 3 and 10 mg/kg, Rapitalam also decreased the number of rats in the group (in %) with the signs of tremor 60 min. and 50 min. after the administration of Oxotremorine, respectively.

**Conclusion.** The study revealed that Rapitalam has a pronounced anti-tremor effect. Its administration at the studied doses reduced the symptoms of Oxotremorine-induced tremor in rats.

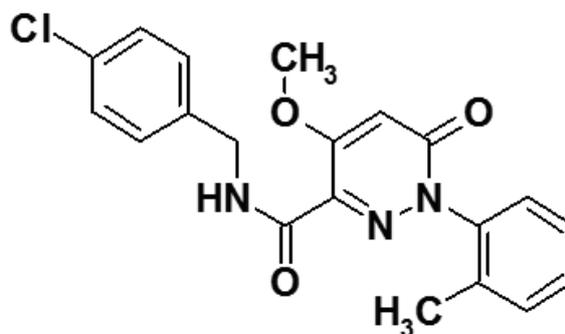
**Keywords:** Parkinson's Disease; mGluR4; Rapitalam; Oxotremorine-induced tremor; Levodopa

## ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона – хроническое заболевание, характеризующееся нарушением функций нервной системы и двигательными расстройствами. Данное заболевание имеет прогрессирующее течение, в связи с чем диагностику и лечение необходимо проводить как можно ранее. Подбор лекарственных препаратов должен быть осуществлен индивидуально в соответствии с клиническими проявлениями болезни. Однако при назначении тех или иных препаратов есть высокая вероятность развития толерантности к препаратам, что требует обязательного увеличения их дозировки [1]. По этой причине на ранних стадиях болезни лечение пациента начинается с назначения более щадящих препаратов в минимальных дозах. К сожалению, лекарственных препаратов, способных полностью вылечить пациентов с болезнью Паркинсона, на данный момент не существует. Поэтому актуальной задачей остается поиск новых терапевтических мишеней и препаратов, способных замедлить прогрессирование процесса нейродегенерации [2].

Метаботропные рецепторы (mGluRs) имеют способность оказывать нейромодулирующее влияние на глутаматергическую и ГАМК-ергическую нейротрансмиссию, что очень интересно для разработки новых mGluR-лигандов, которые могут быть использованы для лечения различных неврологических и психических расстройств [3–5]. Рецепторы mGluR4 получили большое внимание в качестве терапевтической мишени [6–8]. Согласно литературным данным, рецепторы mGluR4 в большом количестве содержатся в синапсах стриаталлидарного пути, в частности, на нейронах внутреннего сегмента Globus pallidus и ретикулярной части Substantia nigra [9]. Активация данных рецепторов приводит к усилению передачи ГАМК-ергического торможения от данных структур на глутаматергические нейроны таламуса, а, следовательно, устранению дисбаланса между тормозными и возбуждающими влияниями, смещенными в сторону возбуждения, что лежит в основе патогенеза дрожательной формы болезни Паркинсона [10, 11]. Ранее на базе НИИ «Фармакология живых систем» был изучен механизм действия новой фармакологической субстанции – Рапиталам.

В результате данного исследования было выявлено, что Рапиталам является агонистом mGluR4-рецепторов [2, 12].



Структура Рапиталама

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ** – изучить влияние Рапиталама на оксотреморин-индуцированный тремор у крыс.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Животные

Исследование проводилось на самцах крыс линии Sprague Dawley, 12–14-недельного возраста, массой 230–260 г, полученных из питомника лабораторных животных «Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» г. Пущино. Все животные были разделены на 6 групп по 10 особей (табл. 1). Группы формировались методом случайного отбора с использованием массы тела в качестве ведущего признака так, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения более, чем на 20%. Содержание животных соответствовало всем правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований на территории России. Животные содержались в стандартных условиях, соответствующих санитарным правилам СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от

29.08.2014 г. № 51 и ГОСТ 33215-2014. Содержание и все проводимые с животными манипуляции соответствовали требованиям Европейской конвенции по

защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986 г.).

Таблица 1 – Группы животных

№ группы	Вводимый препарат	Количество крыс в группе
1	Контроль 1 (РО – 0,5% Твин-80, IP – 0,9% р-р натрия хлорида)	10
	Оксотреморин-индуцированный тремор	
2	Контроль 2 (РО – 0,5% Твин-80, IP – оксотреморин)	10
3	Леводопа 50 мг/кг	10
4	Рапиталам, 1 мг/кг	10
5	Рапиталам, 3 мг/кг	10
6	Рапиталам, 10 мг/кг	10

Примечание: РО – внутрижелудочно, IP – внутрибрюшинно

### Дизайн исследования

Исследуемое соединение рапиталам и препарат сравнения Леводопа, вводили животным внутрижелудочно (РО) один раз в сутки в течение 10 дней. Непосредственно перед каждым введением исследуемого соединения и препаратов сравнения регистрировали массу тела животных.

### Модель оксотреморин-индуцированного тремора

Всем группам животных кроме группы Контроль 1, через 30 мин после введения тестируемого соединения и Леводопа внутрибрюшинно (IP) вводили раствор оксотреморина в дозе 1,5 мг/кг. Животным из группы Контроль 1 аналогичным образом вводили растворитель (0,9% раствор натрия хлорида) в эквивалентном объеме. После введения оксотреморина у животных регистрировалась выраженность (в балах)

оксотреморин-индуцированного тремора и время, через которое происходило угасание симптоматики.

### Методы статистического анализа данных

Межгрупповое статистическое сравнение проводили при помощи критерия Крускал-Уоллиса с постанализом по критерию Дана. Для статистического сравнения повторяющихся измерений (оксотреморин-вызванного тремора в течение периода наблюдения) был использован Repeated measures ANOVA, в случае выявления отличий между группами, применяли критерий Бонферони. Различия были определены при 0,05 уровне значимости (GraphPadPrism 5.0).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных всех групп, которым вводился оксотреморин, регистрировалось развитие тремора (Таблица 2).

Таблица 2 – Латентный период и длительность тремора в группах крыс, средн. ± ст. ош.

	латентный период, мин	длительность, мин
Контроль 1	0±0	0±0
Контроль 2	10±0*	68,8±5,8*
Леводопа 50 мг/кг	10±0*	62,2±4*
Рапиталам 1 мг/кг	10±0*	67,8±5,2*
Рапиталам 3 мг/кг	10±0*	57,8±2,8*
Рапиталам 10 мг/кг	8,9±1,1*	52,2±3,6*#

Примечание: \*  $p < 0,05$  в сравнении с группой Контроль 1, #  $p < 0,05$  в сравнении с группой Контроль 2 (непараметрический критерий Крускал-Уоллиса, постанализ Дана)

Оксотреморин при внутрибрюшинном введении крысам из группы Контроль 2 вызывал нарастающую степень выраженности тремора с 10-й по 20-ю минуты после введения. Через 40 мин после введения оксотреморина степень выраженности тремора у контрольных крыс начала снижаться, и, начиная с 80-й мин, проявлений тремора у животных зарегистрировано не было (Таблица 3).

В группе 3, которой вводили препарат Леводопа в дозе 50 мг/кг, по сравнению с группой Контроль 2, было отмечено достоверное уменьшение выражен-

ности тремора через 20, 30 и 50 мин после введения оксотреморина (Таблица 3). Через 60 мин в данной группе было отмечено значимое уменьшение % крыс с тремором (Таблица 4).

Как видно из таблицы 3, Рапиталам в дозе 1 мг/кг не оказывал влияния на показатели тремора у крыс. При введении Рапиталама в дозах 3 и 10 мг/кг происходило достоверное снижение выраженности тремора. В сравнении с группой контроля выраженность тремора достоверно угасала к 50 мин при дозе 3 мг/кг, а при дозе 10 мг/кг – начиная с 30 минуты

после введения оксотреморина. Из таблицы 4 видно, что количество крыс (в %) с тремором уменьшилось через 60 и 50 мин при введении Рапиталама в дозах 3 и 10 мг/кг соответственно.

**Таблица 3 – Выраженность оксотреморин-индуцированного тремора у крыс в баллах, средн. ± ст. ош.**

Группы	Время после введения оксотреморина, мин											
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
Контроль 1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
Контроль 2	1,8±0,3*	2±0,3*	1,9±0,4*	1,5±0,3*	1,3±0,3*	0,6±0,3*	0,4±0,2*	0,1±0,1*	0±0	0±0	0±0	0±0
Леводопа 50 мг/кг	1,4±0,2*	1,2±0,3*#	1±0,2*#	1,1±0,1*	0,6±0,2*#	0,1±0,1*	0,1±0,1*	0,1±0,1*	0±0	0±0	0±0	0±0
Рапиталам 1 мг/кг	1,9±0,3*	1,9±0,2*	1,4±0,2*	1,3±0,2*	0,9±0,1*	0,6±0,2*	0,2±0,1*	0,2±0,1*	0±0	0±0	0±0	0±0
Рапиталам 3 мг/кг	1,8±0,2*	1,8±0,2*	1,4±0,3*	1,2±0,1*	0,6±0,2*#	0,2±0,1*	0±0*	0±0*	0±0	0±0	0±0	0±0
Рапиталам 10 мг/кг	1,3±0,3*	1,4±0,2*	1±0,2*	0,8±0,1*	0,2±0,1*#	0,2±0,1*	0±0*#	0±0*	0±0	0±0	0±0	0±0

Примечание: \*  $p < 0,05$  в сравнении с группой Контроль 1, #  $p < 0,05$  в сравнении с группой Контроль 2 (Repeated measures ANOVA, критерий Бонферони)

**Таблица 4 – Выраженность оксотреморин-индуцированного тремора у крыс в %, средн. ± ст. ош.**

Группы	Время после введения оксотреморина, мин											
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
Контроль 1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
Контроль 2	100±0*	100±0*	88,9±11,1*	87,5±12,5*	87,5±12,5*	50±18,9*	37,5±18,3*	12,5±12,5*	0±0	0±0	0±0	0±0
Леводопа 50 мг/кг	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	55,6±17,6*	11,1±11,1*#	11,1±11,1*	11,1±11,1*	0±0	0±0	0±0	0±0
Рапиталам 1 мг/кг	100±0*	100±0*	100±0*	88,9±11,1*	88,9±11,1*#	55,6±17,6*#	22,2±14,7*	22,2±14,7*	0±0	0±0	0±0	0±0
Рапиталам 3 мг/кг	100±0*	100±0*	88,9±11,1*	100±0*	55,6±17,6*	22,2±14,7*	0±0#	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
Рапиталам 10 мг/кг	88,9±11,1*	100±0*	77,8±14,7*	77,8±14,7*	22,2±14,7*#	22,2±14,7*	0±0#	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

Примечание: \*  $p < 0,05$  в сравнении с группой Контроль 1, #  $p < 0,05$  в сравнении с группой Контроль 2, &  $p < 0,05$  в сравнении с группой Леводопа 50 мг/кг (Repeated measures ANOVA, критерий Бонферони)

Таким образом, на модели оксотреморин-индуцированного тремора у крыс показана эффективность Рапиталама при внутрижелудочном введении в течение 10 дней (1 раз в сутки) в дозах 3 и 10 мг/кг. В дозе 3 мг/кг исследуемое соединение вызывало достоверное в сравнении с контролем снижение выраженности тремора с 50 мин и уменьшению количества крыс с тремором с 60 мин после введения оксотреморина. В дозе 10 мг/кг Рапиталам приводил к уменьшению выраженности тремора у крыс с 30-й мин, а количество животных с тремором с 50 мин. и далее. В группе крыс, которым вводили препарат сравнения Леводопа в дозе 50 мг/кг, степень тремора достоверно снижалась, начиная с 20-й мин после введения оксотреморина, а через 60 мин после введения в данной группе было отмечено значимое уменьшение % крыс с тремором.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Рапиталам снижает проявление оксотреморин-индуцированного тремора у крыс за счет выра-

женного холиноблокирующего эффекта. Для того, чтобы объяснить холиноблокирующий эффект Рапиталама необходимо более подробно рассмотреть механизмы взаимодействия в экстрапирамидной системе головного мозга. Экстрапирамидная система представляет собой совокупность структур головного мозга, участвующих в управлении движениями, поддержании мышечного тонуса и позы. Эту систему можно представить в виде трех основных образований: paleostriatum (бледным шаром), neostriatum (хвостатое ядро и скорлупа) и s. nigra (черное вещество) [13]. При нормальном функционировании структур экстрапирамидной системы, холинергические мотонейроны спинного мозга находятся в состоянии постоянной активности и повышают тонус мышц. ГАМК-ергические нейроны бледного шара тормозят двигательные нейроны спинного мозга, что приводит к снижению мышечного тонуса. Параллельно ГАМК-ергические нейроны хвостатого ядра тормозят бледный шар, следовательно, угнетение



## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Schapira, A.H.V. Neurobiology and treatment of Parkinson's disease. // Trends Pharmacol. Sci. – 2009. – Vol. 30(1). – P. 41–47. DOI: 10.1016/j.tips.2008.10.005.
- Marino, M.J., Conn, P.J. Glutamate-based therapeutic approaches: allosteric modulators of metabotropic glutamate receptors. // Curr. Opin. Pharmacol. – 2006. – Vol. 6(1) – P. 98–102. DOI: 10.1016/j.coph.2005.09.006.
- Avdeeva, N.V., Nikitina, V.A., Kochkarova, I.S., Litvinova, A.S. The possibility of administration of glutamate receptors antagonists in the treatment of parkinson's disease. // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. – 2016. – Vol. 2(3). – P. 86–94. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-86-94.
- Avdeeva, N.V., Kulikov, A.L., Pokrovskii, M.V., Avtina, T.V. Pharmacokinetic studies of new antiparkinsonian drug Rapitalam. // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. – 2016. – Vol. 2(4). – P. 3–8. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-3-8
- Voronkov, A.V., Pozdnyakov, D.I. Endothelotropic activity of 4-hydroxy-3,5-di-tert-butylcinnamic acid in the conditions of experimental cerebral ischemia. // Research Results in Pharmacology. – 2018. – Vol. 4 (2). – P. 1–10. DOI:10.3897/rrpharmacology.4.26519
- Corti, C., Aldegheri, L., Somogyi, P., Ferraguti, F. Distribution and synaptic localisation of the metabotropic glutamate receptor 4 (mGluR4) in the rodent CNS. // Neuroscience. – 2002. – Vol. 110(3). – P. 403–420. DOI: 10.1016/S0306-4522(01)00591-7
- Marino, M.J., Hess, J.F., Liverton, N. Targeting the metabotropic glutamate receptor mGluR4 for the treatment of diseases of the central nervous system. // Curr. Top. Med. Chem. – 2005. – Vol. 5(9). – P. 885–895. DOI:10.2174/1568026054750263
- Yang, Z.Q. Agonists and antagonists for group III metabotropic glutamate receptors 6, 7, and 8. // Curr. Top. Med. Chem. – 2005. – Vol. 5(9). – P. 913–918. DOI :10.2174/1568026054750272
- Johnson, K. A., Conn, P. J., and Niswender, C. M. Glutamate receptors as therapeutic targets for Parkinson's disease. // CNS and Neurological Disorders. – 2009. – Vol. 8(6). – P. 475–491. DOI: 10.2174/187152709789824606
- Hopkins, C.R., Lindsley, C.W., Niswender, C.M. mGluR4-positive allosteric modulation as potential treatment for Parkinson's disease. // Future Med Chem. – 2009. – Vol. 1(3). – P. 501–513. DOI: 10.4155/fmc.09.38.mGluR4-positive
- Wichmann, T., DeLong, M.R. Functional neuroanatomy of the basal ganglia in Parkinson's disease. // Adv. Neurol. – 2003. – Vol. 91. – P. 9–18.
- Авдеева, Н.В., Сидорова, С.А., Поветкин, С.В., и др. Позитивная аллостерическая модуляция рецепторов mGluR4 как потенциальный подход к лечению болезни Паркинсона. // Известия высших учебных заведений. Медицинские науки. – 2018. – № 3. – С. 194–206.
- Boraud, T., Bezard, E., Bioulac, B., Gross, C.E. From single extracellular unit recording in experimental and human parkinsonism to the development of a functional concept of the role played by the basal ganglia in motor control. // Prog. Neurobiol. – 2002. – Vol. 66(4). – P. 265–283. DOI: 10.1016/S0301-0082(01)00033-8
- Conn, P.J., Pin, J.P., Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1997. DOI: 37:205–237. 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.205
- Dauer, W., Predborski, S. Parkinson's disease: mechanisms and models. // Neuron. – 2003. – Vol. 39(6). – P. 889–909. DOI:10.1016/S0896-6273(03)00568-3
- Электронный ресурс, лекции белорусского государственного медицинского университета. <https://studfiles.net/preview/6011051/>
- Pisani, A., Bernardi, G., Ding, J., Surmeier, D.J. Re-emergence of striatal cholinergic interneurons in movement disorders. // Trends Neurosci. – 2007. – Vol. 30. – P. 545–553. DOI:10.1016/j.tins.2007.07.008
- DiChiara, G., Morelli, M., Consolo, S. Modulatory functions of neurotransmitters in the striatum: ACh/dopamine/NMDA interactions. // Trends Neurosci. – 1994. – Vol. 17(6). – P. 228–233. DOI: 10.1016/0166-2236(94)90005-1
- Lester, D.B., Rogers, T.D., Blaha, C.D. Acetylcholine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. // CNS Neurosci Ther. – 2010. – Vol. 16(13). – P. 137–162. DOI: 10.1111/j.1755-5949.2010.00142.x

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## АВТОР

**Авдеева Наталья Викторовна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1405-4555>. E-mail: 7400468@mail.ru

ственный национальный исследовательский университет. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1405-4555>. E-mail: 7400468@mail.ru