

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

АНТИЭМЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 5-НТ₃-АНТАГОНИСТА СОЕДИНЕНИЯ РУ-1276

Д. С. Яковлев^{1, 2}, Н. А. Колобродова¹, А. А. Спасов^{1, 2}, В. А. Анисимова³

Исследовалась противорвотная активность нового соединения РУ-1276 (дигидрохлорида 1-пиперидинопропил-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2-*a*]бензимидазола), антагониста 5-НТ₃-рецепторов, на модели острой цисплатиновой (3 мг/кг) рвоты у собак. Для выявления возможного дофаминоблокирующего действия проводили тесты взаимодействия с апоморфином (15; 1 и 0,1 мг/кг) и галоперидолом (3 мг/кг) у крыс. При введении соединения РУ-1276 наблюдалось уменьшение количества и длительности приступов рвоты в условиях цисплатинового эметогенеза на 64 % ($p = 0,05$), но не изменение эффектов апоморфина и галоперидола. Уровень противорвотной активности вещества РУ-1276 был равен активности ондансетрона.

Ключевые слова: 5-НТ₃; ондансетрон; противорвотное действие; антиэметическое действие; апоморфин; галоперидол.

ВВЕДЕНИЕ

Современное развитие противоопухолевой фармакотерапии направлено на увеличение эффективности, минимизацию токсических проявлений и улучшение переносимости терапии пациентами. Развитие такого побочного эффекта как острая цитотоксическая рвота является одним из определяющих факторов для пациентов при отказе от необходимого курса химиотерапии [2, 10].

Механизм развития этого феномена связан со стимуляцией цитостатиками или их метаболитами энтерохромаффинных клеток тонкого кишечника, что вызывает увеличение синтеза и высвобождения серотонина (5-гидрокситриптамина, 5-НТ). Последний, взаимодействуя с 5-НТ₃-рецепторами афферентных нервных волокон, вызывает аномальную импульсацию *n. vagus*, что приводит к выделению серотонина в пограничной зоне и стимуляции 5-НТ₃-рецепторов триггерной зоны рвотного центра [13]. Интересной особенностью является минимальное участие в этом патогенезе дофаминергического звена, несмотря на высокую плотность D₂-рецепторов в триггерной зоне рвотного центра и существенную роль в эметогенезе иной этиологии. Об этом свидетельствует низкая эффективность антагонистов дофаминовых рецепторов при цитотоксической рвоте, значительно уступающая по уровню действия существующим 5-НТ₃-блокаторам (ондансетрон, тро-

писетрон, палонсетрон), а также активно разрабатываемым новым 5-НТ₃-антагонистам [9, 7].

В предыдущих исследованиях было выявлено соединение РУ-1276 (дигидрохлорид 1-пиперидинопропил-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2-*a*]бензимидазола) [4] с высокой 5-НТ₃-блокирующей активностью *in vitro* и в 3,6 раза меньшей токсичностью, чем ондансетрон. В настоящей работе целью явилось исследование противорвотных свойств соединения РУ-1276 на модели экспериментального цисплатинового эметогенеза, а также уточнение его возможного дофаминергического компонента антиэметического механизма действия.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования были одобрены независимым этическим комитетом и проводились согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ.

Для оценки антиэметического действия использовали методику цисплатин-индуцированной рвоты у собак [8] в модификации [6]. Эксперименты были проведены на 12 беспородных собаках обоего пола массой 9 – 12 кг. Животные содержались в стандартных условиях вивария на полнорационном сбалансированном по содержанию питательных веществ корме для лабораторных животных.

Соединение РУ-1276 (дигидрохлорид 1-пиперидинопропил-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2-*a*]бензимидазола) синтезировано в лаборатории органического синтеза НИИ физической и органической химии Южного федерального университета. Чистота соединения составляла 99,9 %; идентификацию структуры проводили по данным ЯМР, молекулярная масса соединения – 449,3; хорошо растворимо в воде. При исследовании использовали свежеприготовленный раствор.

¹ ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Волгоград, 400131, пл. Павших борцов, 1.

² ГБУ Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, 400131, пл. Павших борцов, 1.

³ НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, 344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/2.

За 2 ч до исследования производилось последнее кормление животных, при этом доступ к воде оставался свободным в течение всего эксперимента. Развитие рвоты достигалось внутривенным введением 0,05 % раствора цисплатина из расчета 3 мг/кг. Животным в опытных группах за 30 мин до инъекции цитостатика внутривенно вводили соединение РУ-1276 в дозе 0,015; 0,15 или 1,5 мг/кг, либо препарат сравнения ондансетрон в эквиволярных количествах. Контрольной группе собак вводили изотонический раствор хлорида натрия. В течение 5 ч после введения цисплатина велось наблюдение за животными с регистрацией латентного периода возникновения рвоты и всех случаев ее развития. Критерием оценки антиэметического действия препаратов являлось удлинение латентного периода и уменьшение числа рвотных приступов.

Для выявления возможного дофаминергического механизма действия соединения РУ-1276 использовали тесты взаимодействия его с апоморфином и галоперидолом у крыс. Эксперименты проводились на 54 крысах обоего пола массой 200–220 г (питомник РАМН, Москва), разделенных на контрольные и опытные группы по 6 особей в каждой. Изучаемое соединение вводили крысам опытных групп в максимальной из исследованных в условиях эметогенеза доз 1,5 мг/кг внутривенно за 30 мин до введения соответствующего препарата-анализатора. Группы контроля вместо опытного соединения получали изотонический раствор натрия хлорида в аналогичном объеме.

О взаимодействии с галоперидолом (3 мг/кг, внутривенно, раствор в ампулах, Мосхимфармпрепараты, Россия) судили по способности изменять выраженность каталептогенного действия D₂-антагониста у крыс в опытных группах по отношению к контрольным в течение 2 ч. Уровень каталепсии оценивали по способности сохранять заданную непривычную позу в течение 15 с через 15, 30, 45, 60 и 120 мин после введения галоперидола по балльной шкале С. Morpurgo: 1 балл — передняя лапа слегка отводится и помещается на подставку высотой 3 см; 2 балла — крыса стоит на задних лапах, одна передняя помещена на подставку высотой 10 см; 3 балла — крыса стоит на передних лапах, одна задняя лапа помещена на подставку высотой 10 см [1].

Взаимодействие с апоморфином (субстанция, Sigma, США) изучали в условиях внутривенного введения свежеприготовленного раствора последнего в различных дозах (0,1–15 мг/кг). При этом гипотермическое действие исследовали в тесте с апоморфином в дозе 15 мг/кг; проводя измерение ректальной температуры животных каждые 30 мин в течение 2 ч. Стереотипию изучали с использованием апоморфина в дозе 1 мг/кг, оценивая в течение 2 ч выраженность следующих показателей поведения животных (вертикализация, обнюхивание, лизание, кусание, грызение) по балльной шкале от 0 до 3, где 0 — отсутствие стереотипии; 1 — отдельные стереотипные движения, в том

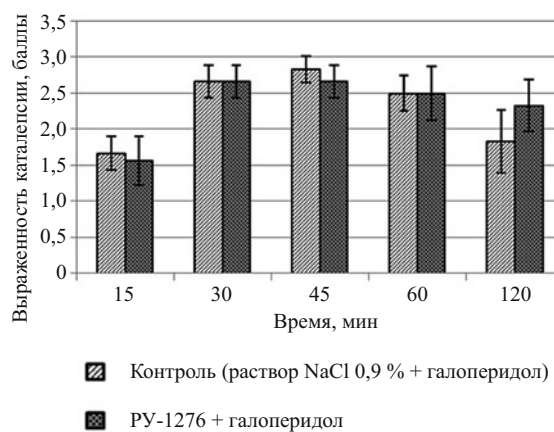


Рис. 1. Влияние соединения РУ-1276 на каталепсию крыс, вызванную галоперидолом.

Введение соединения РУ-1276 (1,5 мг/кг, внутривенно, однократно) и изотонического раствора NaCl (эквивалентный объем, внутривенно) за 30 мин до введения галоперидола (3 мг/кг, внутривенно, однократно). Выраженность каталепсии представлена в баллах по шкале Morpurgo [1] ($M \pm m$).

числе непостоянное принохивание; 2 — непродолжительно длящаяся интенсивная стереотипия, в том числе лизание и грызение; 3 — постоянная и интенсивная стереотипия. Изменение эффекта «зевательных движений» оценивали при использовании апоморфина в дозе 0,1 мг/кг, подсчитывая в течение 1 ч после введения количество характерных «зевков», развитие которых связывают с влиянием на пресинаптические дофаминовые рецепторы [3].

Результаты опытов оценивали в сравнении с показателями соответствующих групп контроля. О влиянии соединения РУ-1276 на дофаминергические процессы

Противорвотное действие соединения РУ-1276 и ондансетрона в условиях цисплатинового эметогенеза у собак ($M \pm m$)

Группа	Доза соединения *, мг/кг	Количество приступов рвоты	Время до развития первого приступа рвоты, мин
Контроль (раствор NaCl 0,9 % + цисплатин)	—	18,5 ± 0,7	139 ± 3
РУ-1276 + цисплатин	0,015	17,0 ± 0,6	141 ± 3
	0,15	6,8 ± 0,7 ^{Δ#§}	159 ± 4 ^{Δ#§}
	1,5	6,5 ± 0,3 ^{Δ#§}	157 ± 3 ^{Δ#§}
Ондансетрон + цисплатин	0,01	17,5 ± 1,0	143 ± 3
	0,1	9,3 ± 0,6 ^{Δ#§}	152 ± 2 ^{Δ#§}
	1	8,5 ± 0,9 ^{Δ#§}	156 ± 4 ^{Δ#§}

Примечания: * Соединение РУ-1276 и ондансетрон изучены в эквиволярных количествах при внутривенном введении.

Использован однофакторный дисперсионный анализ с постобработкой критерием Ньюмана-Кеулса: ^Δ изменение относительно группы контроля статистически значимо, $p < 0,05$; [#] изменение относительно группы соединения РУ-1276 в дозе 0,015 мг/кг статистически значимо, $p < 0,05$; [§] изменение относительно группы ондансетрона в дозе 0,01 мг/кг статистически значимо, $p < 0,05$.

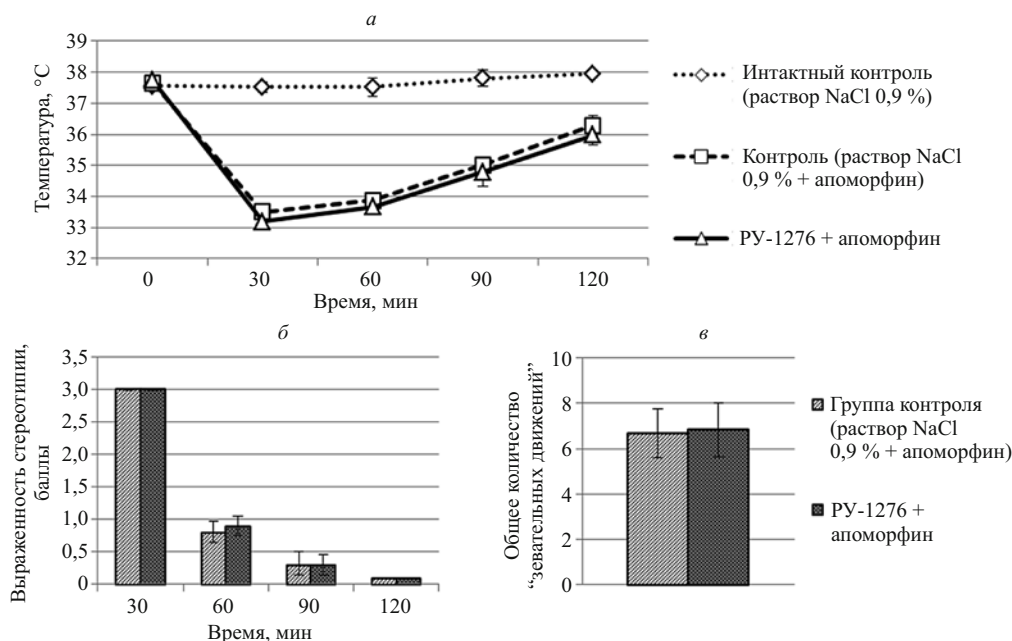


Рис. 2. Влияние соединения РУ-1276 на эффекты апоморфина у крыс.

Введение соединения РУ-1276 (1,5 мг/кг, внутривентриально, однократно) и изотонического раствора NaCl (эквивалентный объем, внутривентриально) за 30 мин до введения апоморфина:

а) изменение ректальной температуры (апоморфин 15 мг/кг); б) влияние на стереотипное поведение (апоморфин 1 мг/кг); в) изменение количества «зевательных движений» крыс (апоморфин 0,1 мг/кг).

судили по количественному изменению регистрируемых эффектов галоперидола или апоморфина.

Статистическую обработку полученных количественных данных проводили с применением однофакторного дисперсионного анализа с постобработкой критерием Ньюмана-Кеулса. Предварительную оценку распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка, проверку условия равенства дисперсий — с помощью критерия Левена. Уровень достоверности p принимался $\leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования была изучена антиэметическая активность соединения РУ-1276 в сравнении с ондансетроном.

При формировании экспериментальной дисплативной рвоты у собак отмечалось развитие приступов, в среднем, через 2 ч после введения цитостатика. При этом отмечалось уменьшение эмоциональной и двигательной активности животных. Приступы рвоты начинались с обильного слюнотечения, сокращений диафрагмы и мышц брюшного пресса и продолжались 1,8 – 2 ч.

В результате исследования было установлено, что при введении животным исследуемых соединений происходит развитие выраженного антиэметического эффекта, а уровень противорвотной активности носит дозозависимый характер (таблица).

В группах собак, получавших вещество РУ-1276 в дозе 1,5 мг/кг и 0,15 мг/кг, отмечалось сокращение ла-

тентного времени развития приступов рвоты по сравнению с группой контроля на 18 – 20 мин. Также отмечалось и сокращение общей продолжительности рвотных приступов на 20 и 25 % в дозах 0,15 и 1,5 мг/кг соответственно.

Аналогичные по уровню эффекты были получены в группах, получавших ондансетрон.

Отмечалось также изменение количества самих приступов. Так, для действия вещества РУ-1276 было характерно статистически значимое уменьшение общего числа приступов в 2,5 – 2,6 раза относительно группы контроля в дозах 1,5 и 0,15 мг/кг, что соответствовало эффекту ондансетрона.

При дальнейшем уменьшении дозировки до 0,015 мг/кг для РУ-1276 и 0,01 мг/кг для ондансетрона выраженность противорвотного действия резко снижалась, вплоть до отсутствия статистических различий с контрольной группой.

На втором этапе исследования была предпринята попытка изучить возможный дофаминергический компонент действия РУ-1276 в тестах взаимодействия с галоперидолом и апоморфином у крыс.

В тесте с галоперидолом у животных контрольной группы наблюдалось развитие стойкой каталептогенной реакции, достигающей максимальных значений (2,8 балла) к 45 мин наблюдения. В то же время при предварительном введении опытной группе изучаемого соединения РУ-1276 в дозе 1,5 мг/кг изменения выраженности симптоматики, по сравнению с группой контроля не отмечалось (рис. 1).

При изучении действия соединения РУ-1276 на выраженность апоморфиновой гипотермии отмечалось значимое понижение температуры тела у всех животных, получавших апоморфин, в среднем на 2,4–2,6 °С относительно интактной контрольной группы. Температура животных опытной группы не отличалась от контрольной на протяжении всего периода наблюдения (рис. 2, а). В тесте апоморфиновой стереотипии также не было выявлено существенных изменений стереотипных поведенческих реакций и длительности их проявления под влиянием исследуемого вещества (рис. 2, б). Аналогичная картина отмечалась в тесте с малыми дозами апоморфина: во всех группах развивались характерные «зевательные движения», при этом не отмечалось статистически значимых различий между группами контроля и животными, получавшими соединение РУ-1276 (рис. 2, в).

Изучение противорвотного действия веществ-кандидатов, демонстрирующих 5-HT₃-блокирующие свойства *in vitro*, закономерно является следующим этапом в оценке их фармакологического профиля на моделях экспериментальной патологии. Это объясняется, в первую очередь, специфическим участием рецепторов этого типа в патогенезе некоторых видов острой тошноты и рвоты, — главным образом, возникающих при проведении цитостатической терапии. На сегодняшний день установлено, что именно специфическое воздействие цитостатиков приводит к опустошению депо серотонина энтерохромаффинных клеток слизистой оболочки кишечника. Это сопровождается резким повышением концентрации данного медиатора в системном кровотоке с последующей стимуляцией 5-HT₃-рецепторов в триггерной зоне мозга и на окончаниях блуждающего нерва, откуда импульсы передаются непосредственно в рвотный центр с дальнейшей активацией эфферентных путей [12]. В связи с этим использование экспериментальных моделей цитостатической рвоты позволяет не только выявить у тестируемых веществ наличие либо отсутствие антиэметической активности, но и с достаточной степенью уверенности судить о механизме этого действия.

Изученное в настоящем исследовании соединение РУ-1276 продемонстрировало выраженные антиэметические свойства на модели цисплатиновой рвоты. Учитывая специфичность патогенетического механизма экспериментальной патологии [5, 11], дозозависимый характер и сравнимую с ондансетроном выраженность эффекта, а также данные предшествующих исследований о наличии у изучаемого вещества 5-HT₃-блокирующей активности *in vitro* [4], можно заключить, что его противорвотное действие также является 5-HT₃-опосредованным.

В то же время, наряду с приведёнными сведениями о патогенетических звеньях формирования рвотного синдрома, известно, что серотонинергический механизм, являясь одним из доминирующих, не является при этом единственно возможным в развитии рвотно-

го акта. Описана тесная связь серотонинергической системы с системой обмена дофамина, существуют препараты со смешанным механизмом действия (метоклопрамид и др.), которые также применяются в комплексной антиэметической терапии. Следует отметить, что эффективность средств этой группы достаточно низка, по сравнению с типичными 5-HT₃-блокаторами, однако оценка дофаминергических свойств потенциальных антиэметиков представляется целесообразной для более полного представления о спектре их активности и возможных мишенях их действия. Предпринятое в этой связи изучение возможного дофаминергического компонента действия соединения РУ-1276 показало отсутствие влияния изучаемого вещества на эффекты агониста дофаминовых рецепторов апоморфина и антагониста галоперидола. При этом выбранные в рамках исследования тесты позволили исключить как гипотетическое пре-, так и постсинаптическое дофаминергическое взаимодействие, на основании чего можно с большой долей уверенности утверждать об отсутствии у вещества РУ-1276 значимого влияния на дофаминергические процессы.

Таким образом, обобщая результаты проведенного исследования, можно заключить, что для изученного соединения дигидрохлорида 1-пиперидинопропил-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2-а]бензимидазола характерно наличие выраженного антиэметического действия, развивающегося в условиях применения цитостатиков, не связанного с угнетением дофаминергической передачи и опосредованного влиянием на 5-HT₃-звено серотонинергической системы. При этом соединение не уступает по антиэметической активности ондансетрону и превосходит его по безопасности, как было показано ранее [4].

ВЫВОДЫ

1. Соединение РУ-1276, 5-HT₃-антагонист, демонстрирует выраженные 5-HT₃-опосредованные антиэметические свойства в условиях цисплатинового эметогенеза, увеличивает латентный период времени до развития приступов рвоты, а также в 2,5–2,6 раза уменьшает их количество по сравнению с контрольной группой ($p = 0,05$). По уровню противорвотной активности соединение не уступает селективному 5-HT₃-блокатору ондансетрону.

2. Механизм противорвотного действия соединения РУ-1276 не связан с торможением дофаминергических процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Воронина, Е. А. Вальдман, Л. Н. Неробкова, И. Г. Капица, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Москва (2012), сс. 219–135.
2. И. А. Королева, М. В. Копп, *Фарматека*, № 6, 30–35 (2010).
3. Р. У. Островская, К. С. Раевский, Т. А. Воронина и др., *Руководство по проведению доклинических исследований ле-*

- карственных средств., Часть первая, Москва (2012), сс. 251 – 263.
4. А. А. Спасов, В. А. Анисимова, Д. С. Яковлев и др., Патент РФ 2438669, *Бюл. изобрет.*, № 1 (2012).
 5. А. А. Спасов, Д. С. Яковлев, *Хим.-фарм. журн.*, **47**(8), 3 – 8 (2013); *Pharm. Chem. J.*, **47**(8), 405 – 408 (2013).
 6. Д. С. Яковлев, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Волгоград (2007).
 7. Д. С. Яковлев, М. В. Черников, И. И. Горягин, В. А. Анисимова, *Психофармакол. и биол. наркол.*, **7**(S2), 2024 (2007).
 8. H. A. Fukui, M. Yamamoto, S. Sato, *Japan J. Pharmacol.*, № 59, 221 – 226 (1992).
 9. P. Gordon, S. B. LeGrand, D. Walsh, *Eur. J. Pharmacol.*, № 722, 187 – 191 (2014).
 10. D. L. Hilarius, P. H. Kloeg, E. Van der Wall, et al., *Support Care Cancer*, **20**(1), 107 – 117 (2012).
 11. C. Loprinzi, *J. Managed Care Medicine*, **17**(2), 45 – 49 (2014).
 12. S. Roberts, D. Bezinover, P. Janicki, *Cancer Manag. Res.*, № 4, 67 – 73 (2012).
 13. C. Rojas, B. S. Slusher, *Eur. J. Pharmacol.*, **684**(1 – 3), 1 – 7 (2012).

Поступила 28.01.15

ANTIEMETIC PROPERTIES OF 5-HT₃-ANTAGONIST RU-1276

D. S. Yakovlev^{1,2}, N. A. Kolobrodova¹, A. A. Spasov^{1,2}, and V. A. Anisimova³

¹ Pharmacology Department, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

² Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd Medical Research Center, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

³ Laboratory of Organic Synthesis, Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, ul. Stachki 194/2 Rostov-on-Don, 344090 Russia

The antiemetic properties of new 5-HT₃-antagonist RU-1276 (1-piperidino-propyl-2-(4-florphenyl)imidazo[1,2-*alfa*]benzimidazole) have been investigated using the experimental model of acute cisplatin-induced (3 mg/kg) emesis in dogs. Potential antagonism with dopamine receptors was studied in tests with apomorphine (at 15, 1, and 0.1 mg/kg) and haloperidole (3 mg/kg) in rats. Tested compound demonstrated statistically significant decrease of rate and duration of cisplatin-induced emesis, but produced no changes in apomorphine and haloperidole effects. The activity level of RU-1276 was equal to that of ondansetron.

Keywords: 5-HT₃; ondansetron; antiemetic drug; antiemetic effect; apomorphine; haloperidole.