

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ ЗАВИСИМОСТИ И ТОЛЕРАНТНОСТИ К АНТИНОЦИЦЕПТИВНОМУ ДЕЙСТВИЮ СОЕДИНЕНИЯ РУ-1205

О. Ю. Гречко¹, Д. М. Штарёва¹, А. А. Спасов^{1, 2}, Р. А. Литвинов¹, А. И. Ращенко¹

Изучена физическая зависимость и толерантность к анальгетической активности соединения РУ-1205. Установлено, что исследуемое соединение не вызывает побочных явлений, типичных для морфина и буторфанолола, включающих развитие синдрома отмены при провокации налоксоном и толерантности к анальгетической активности при 14-дневном введении.

Ключевые слова: каппа-агонист; толерантность; физическая зависимость; морфин; буторфанол; бензимидазол.

ВВЕДЕНИЕ

Каппа-рецепторные агонисты представляют собой перспективную группу веществ для разработки неаддиктивных анальгетиков [5, 11, 13, 14]. Результаты проведенных ранее исследований свидетельствуют о выраженных анальгетических свойствах соединения под лабораторным шифром РУ-1205, которые реализуются посредством каппа-опиоидергических механизмов, что подтверждается способностью норбиналторфимина блокировать эффекты вещества в тестах *in vivo* [3]. Целью данного исследования явилось изучение синдрома отмены и толерантности к анальгетической активности соединения РУ-1205.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе представлены данные по изучению физической зависимости и развития толерантности к анальгетической активности субстанции соединения РУ-1205 дигидрохлорида 9-(2-морфолиноэтил)-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2-*a*]бензимидазола, синтезированного в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета [4].

Экспериментальные исследования проводили с использованием агониста мю-опиоидных рецепторов — морфина гидрохлорида (ОАО “Московская фармацевтическая фабрика”, Россия), агониста каппа- и парциального агониста мю-опиоидных рецепторов — буторфанолола тартрата (“ОАО “Московская фармацевтическая фабрика”, Россия), неселективного антагониста опиоидных рецепторов — налоксона (ОАО “Московская фармацевтическая фабрика”, Россия). Эксперименты были выполнены на 90 белых половозрелых неинбредных мышках-самцах массой 20 – 25 г. Животные предоставлены ФГУП ПЛЖ “Рапполово” РАМН (Ленинградская обл., пос. Рапполово). Содержание грызунов и методы экспериментальных работ реализованы

в соответствии с международными правовыми и этическими нормами, а также требованиями государственных стандартов РФ (ГОСТ Р 50258 – 92), требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях от 22.09.2010 г, приказом Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н и приказом Минздравсоцразвития России протокол № 6 от 22.12.2012 г. Манипуляции над животными одобрены экспертной комиссией регионального этического комитета (Протокол № 177 – 2013 от 17.05.2013 г.).

Физическую зависимость исследовали при введении веществ 2 раза в день в течение 5 дней по схеме: 3 инъекции по 50 мг/кг, 3 — по 75 мг/кг и 3 — по 100 мг/кг [2]. Во всех экспериментах синдром отмены провоцировали налоксоном (10 мг/кг подкожно) через 5 ч после последней инъекции тестируемых веществ. Во всех экспериментах регистрировали число прыжков, тремора в виде “барабанного боя”, встряхивания, стука зубами, птоза на протяжении 1 ч после инъекции налоксона. При этом прыжки являются основным компонентом абстинентного синдрома, “доминантным” признаком, свидетельствующим о его тяжести. Тремор (“барабанный бой”), стук зубами, корчи отнесены к так называемым рецессивным признакам и соответствуют легкому течению синдрома отмены. Также оценивали массу мышей до и через 2 ч после введения налоксона. Критерием выраженности синдрома отмены считали уменьшение числа прыжковых реакций относительно группы, получавшей по такой же схеме морфин [2].

Развитие толерантности к антиноцицептивному действию изучали в тесте “горячая пластина”. Животных помещали на разогретую до 55 °С медную пластину, окруженную пластиковым цилиндром. Фиксировали латентное время ноцицептивной реакции в виде облизывания задних лап, которая появляется у животных с достижением порога болевой чувствительности [9]. Критерием анальгетического эффекта

¹ ВолгГМУ, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

² Волгоградский медицинский научный центр, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

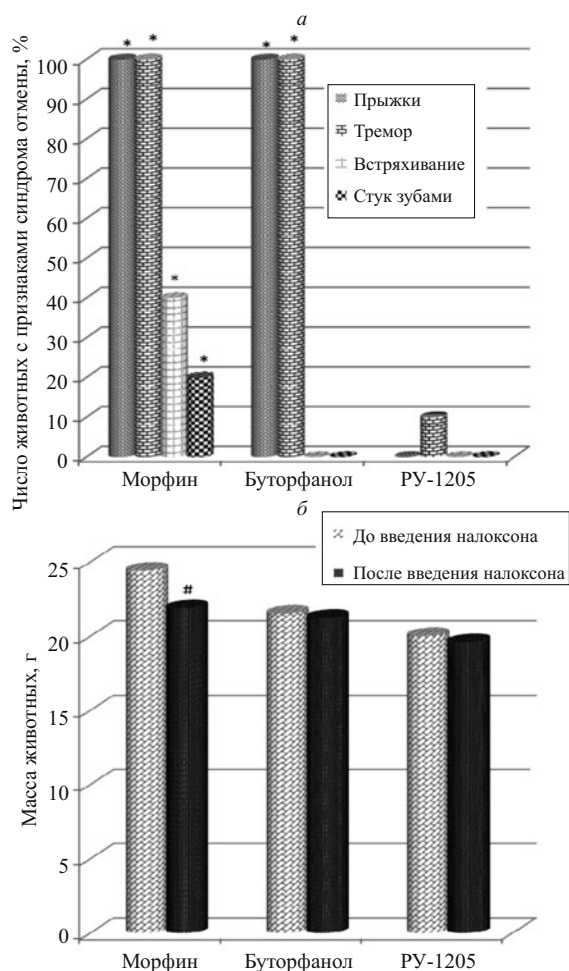


Рис. 1. Оценка наркотического потенциала соединения РУ-1205 в сравнении с морфином и буторфанолом: а) тест на зависимость при хроническом введении; б) — влияние морфина, буторфанолола, соединения РУ-1205 на изменение массы животных в условиях хронического введения веществ. * $p < 0,05$ — данные статистически значимы по отношению к контрольной группе животных; # $p < 0,05$ — данные статистически значимы по отношению к группе животных до введения налоксона.

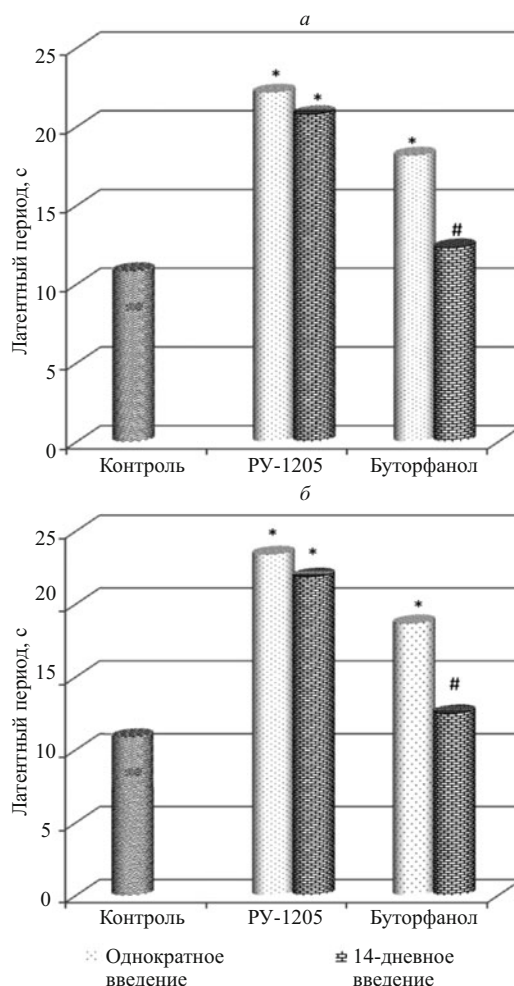


Рис. 2. Влияние соединений РУ-1205 и буторфанолола на развитие толерантности к анальгетическому эффекту в тесте “горячая пластина” при подкожном введении: а) обезболивающий эффект при хроническом введении соединения РУ-1205 и буторфанолола в дозе 1 мг/кг; б) обезболивающий эффект при хроническом введении соединения РУ-1205 и буторфанолола в дозе 10 мг/кг. * $p < 0,05$ — данные статистически значимы по отношению к контрольной группе животных, # $p < 0,05$ — данные статистически значимы по отношению к группе животных, однократно получавших буторфанол.

считали статистически значимое увеличение латентного периода реакции после введения соединений. Соединение РУ-1205 вводили подкожно в дозах 1 и 10 мг/кг и внутрь — 5 и 50 мг/кг. Выбор доз осуществляли в соответствии с руководством [1]. Данные дозы соответствуют предполагаемым терапевтической и десятикратной терапевтической для указанных путей введения. Растворение вещества осуществляли в 0,5 мл физиологического раствора. Буторфанол вводили только подкожно в дозах 1 и 10 мг/кг, так как при приеме внутрь он малоэффективен из-за интенсивного метаболизма в печени [7]. Исследуемые соединения и эквивалентный объем растворителя вводили ежедневно 2 раза в сутки на протяжении 14 дней. Критерием развития толерантности считали снижение анальгетического действия в группе, хронически получавшей вещество, относительно контрольной группы, хронически получавшей растворитель и в день тестирования

получившей вещество [2]. Результаты обрабатывали статистически при помощи компьютерной программы GraphPad Prism 5.0 с использованием критериев Краскела — Уолиса и Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной серии экспериментов при изучении синдрома отмены в условиях провокации налоксоном признаков зависимости не отмечалось.

На фоне хронического введения морфина налоксон вызывал прыжковую активность, “барабанный бой” и птоз у 100 % животных. В 40 % случаев отмечались встряхивания и диарея и у 20 % морфин-зависимых животных — стук зубами. Кроме этого, через 2 ч после максимальной дозы морфина у грызунов наблюдалась потеря массы тела, соответствовавшая 10,3 %. В

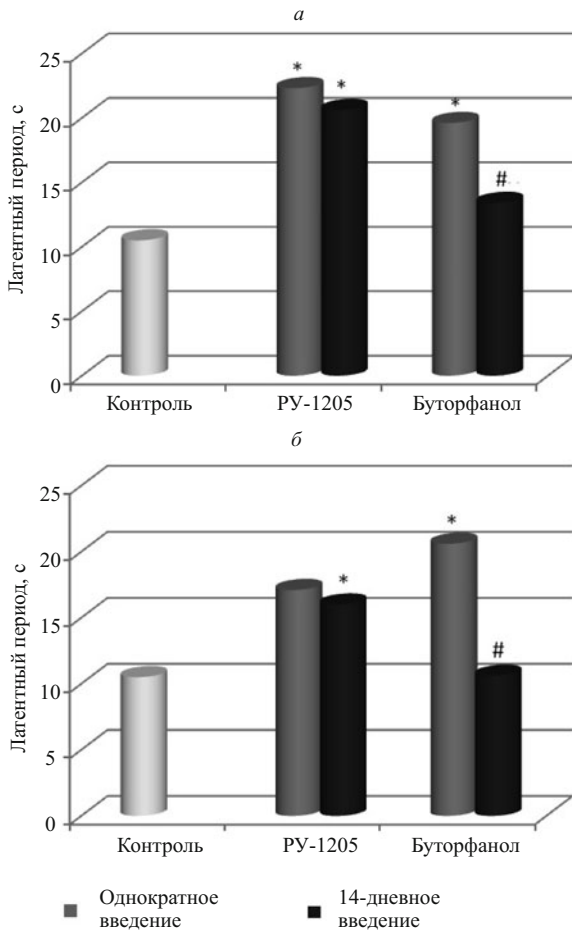


Рис. 3. Влияние соединений РУ-1205 и морфина на развитие толерантности к анальгетическому эффекту в тесте “горячая пластина” при введении внутрь: обезболивающий эффект при хроническом введении соединения РУ-1205 и морфина в дозе 5 мг/кг (а) и в дозе 50 мг/кг (б). * $p < 0,05$ данные статистически значимы по отношению к контрольной группе животных, # $p < 0,05$ — данные статистически значимы по отношению к группе животных, однократно получавших морфин.

группе мышей, получавших буторфанол, также регистрировались признаки зависимости — прыжки и тремор у 100 % животных. Изменений массы тела мышей, получавших буторфанол, не наблюдалось. Таким образом, при хроническом введении буторфанола было выявлено более легкое течение синдрома отмены по сравнению с таковым у группы морфина. В группе мышей, получавших вещество РУ-1205, доминантных признаков зависимости не наблюдалось. Только у 10 % животных отмечался тремор (рис. 1, а).

На модели термического ноцицептивного раздражения в тесте “горячая пластина” у мышей в контрольной группе, получавших подкожно растворитель, латентный период реакции облизывания задних лап составил $(10,1 \pm 1,8)$ с. Вещество РУ-1205 в дозах 1 и 10 мг/кг при подкожном введении на 14 сут эксперимента после 13-дневных инъекций эквивалентного объема физиологического раствора вызывало статистически значимое увеличение порога болевой реак-

ции относительно контроля в 2,2 и 2,3 раза соответственно. Показано, что соединение РУ-1205 при 14-дневном подкожном введении в дозах 1 и 10 мг/кг статистически значимо не изменяло латентный период ноцицептивной реакции, по сравнению с эффектом однократной инъекции. В то же время латентный период ноцицептивной реакции после введения буторфанола буторфанол-толерантным грызунам отчетливо снижался относительно показателей однократного введения препарата в дозах 1 и 10 мг/кг на 72,2 и 71,9 % соответственно (рис. 2). Результаты экспериментальной работы согласуются с данными [6].

При введении растворителя внутрь у мышей контрольной группы латентный период ноцицептивной реакции составил $(10,5 \pm 1,3)$ с. Соединение РУ-1205 в дозах 5 и 50 мг/кг при введении внутрь на 14 сут эксперимента после 13-дневных инъекций эквивалентного объема физиологического раствора вызывало статистически значимое увеличение порога ноцицептивной реакции относительно контроля в 2,2 и 1,7 раза соответственно, а при 14-дневном введении в этих же дозах — в 2 и 1,6 раза соответственно. Морфин в дозах 5 и 50 мг/кг при однократном введении вызывал статистически значимое увеличение порога ноцицептивной реакции относительно контроля в 1,9 и 2 раза соответственно. Тогда как латентный период ноцицептивной реакции морфин-толерантных грызунов в ответ на морфин отчетливо снижался относительно однократного применения препарата в дозах 5 и 50 мг/кг на 67,8 и 98,6 % соответственно (рис. 3).

Одной из наиболее изучаемых проблем функциональных изменений опиоид-опосредованных реакций в ответ на действие анальгетиков является исследование их влияния на развитие толерантности и синдрома отмены. В ряде работ, посвященных проблеме развития толерантности к опиоидной анальгезии, сообщается, что каппа-селективные агонисты не вызывают формирование толерантности к антиноцицептивному действию у мышей при хроническом введении на различных моделях ноцицептивных реакций [10, 12]. В результате проведенного исследования было показано, что тестируемое вещество РУ-1205 не вызывает признаков физической зависимости при хроническом введении и толерантности к обезболивающему действию в тесте “горячая пластина”. Тенденция к развитию антиноцицептивной толерантности буторфанола согласуется с результатами исследований других авторов, продемонстрировавших развитие толерантности *in vivo* у крыс и мышей, хотя ее выраженность значимо уступала таковой у морфин-толерантных грызунов [6].

Таким образом, соединение под лабораторным шифром РУ-1205 является структурно новым каппа-опиоидным агонистом с выраженными анальгетическими свойствами без нежелательных побочных эффектов, типичных для морфина и буторфанола, включающих развитие физической зависимости и толерантности к анальгетической активности.

ВЫВОДЫ

1. По методу оценки развития синдрома отмены с провокацией налоксоном у животных, получавших соединение РУ-1205, в отличие от морфин- и буторфанолзависимых грызунов, проявления абстиненции не установлены.

2. Соединение РУ-1205 при 14-дневном введении не приводило к развитию толерантности к анальгетическому эффекту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. В. Арзамасцев, И. В. Березовская, О. Л. Верстакова и др., *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2012), сс. 13 – 24.
2. Т. А. Воронина, Л. С. Гузевых, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2012), сс. 197 – 218.
3. А. А. Спасов, О. Ю. Гречко, Д. М. Штарёва и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **76**(9), 15 – 18 (2013).

4. Патент РФ № 2 413 512 С1 от 29.07.2009 г., *Средства, обладающие калпа-опиоидной агонистической активностью*, В. А. Анисимова и др., *Бюл. изобрет.*, № 7 (2011).
5. J. V. Aldrich, *J. AAPS*, **1**(2), 312 – 322 (2009).
6. Y. Z. Feng, Y. T. Tseng, S. P. Jaw, et al., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **49**, 649 – 655 (1994).
7. J. C. Gillis, P. Benfield, K. L. Goa, *Drugs*, № 50, 157 – 175 (1995).
8. M. Gringauz, R. Rabinowitz, A. Stav, *J. Anesth.*, № 4, 204 – 209 (2001).
9. D. Le Bars, M. Gozariu, S. W. Cadden, *Pharmacol. Rev.*, **53**, 597 – 652 (2001).
10. J. C. Lemos, C. Chavkin, *Opiate receptors*, Pasternak G. W. (ed.), Humana Press, New Jersey (2011).
11. T. E. Prisinzano, K. Tidgewell, W. W. Harding, *J. AAPS*, **7**(3), 592 – 599 (2005).
12. T. S. Shippenberg, A. Zapata, V. I. Chefer, *Pharmacol. Ther.*, **116**(2), 306 – 321 (2007).
13. Y. M. Tao, Q. L. Li, C. F. Zhang, *Eur. J. Pharmacol.*, **584**(2 – 3), 306 – 311 (2008).
14. T. W. Vanderah, *Clin. J. Pain*, **26**(10), 10 – 15 (2010).

Поступила 18.11.15

STUDYING THE PHYSICAL DEPENDENCE ON AND TOLERANCE TO THE ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF RU-1205 SUBSTANCE

O. Yu. Grechko¹, D. M. Shtareva¹, A. A. Spasov^{1,2}, L. A. Litvinov¹, and A. I. Rashchenko¹

¹ Chair of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia;

² Volgograd Medical Research Center, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131, Russia

We have studied the physical dependence on and tolerance to the analgesic activity of compound RU-1205. It is established that this compound does not cause side effects typical of morphine and butorphanol including the development of withdrawal syndrome upon naloxone provocation and tolerance to analgesic activity upon 14-day administration.

Keywords: kappa-agonist; tolerance; physical dependence; morphine; butorphanol; benzimidazole.