

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ РАПИТАЛАМ IN VIVO

Н. В. Авдеева

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия

Аннотация

Цель. Изучение механизмов действия фармацевтической субстанции Рапиталам на моделях паркинсонического синдрома.

Материалы и методы. На самцах мышей и крыс изучались различные эффекты новой фармакологической субстанции — N-хлорофенил-метил-дигидро-метокси-метилфенил-оксопиридазина карбоксамид (Рапиталам). В ходе эксперимента воспроизводились различные модели паркинсонического синдрома: моделирование паркинсонического синдрома путем введения нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина гидрохлорида (МФТП), моделирование галоперидол-индуцированной каталепсии, моделирование апоморфин-индуцированной стереотипии, моделирование оксотреморин-индуцированного тремора с проведением последующих тестов. Для определения эффективности Рапиталама на симптоматику, полученную при введении животным МФТП, осуществлялись следующие тесты: тест «открытое поле», тест «вращающийся стержень», оценивалась сила хватки и степень ригидности по длине шага. При моделировании галоперидол-индуцированной каталепсии проводили тест горизонтального стержня. После введения апоморфина оценивали выраженность стереотипии в баллах. Для изучения холинергического звена использовалась модель оксотреморин-индуцированного тремора у крыс. После введения оксотреморина оценивали степень выраженности тремора на фоне введения исследуемых соединений.

Результаты. При анализе данных тестов «открытое поле», «вращающийся стержень», а также длины шага и силы хватки при моделировании синдрома паркинсонизма путем введения МФТП, межгрупповых статистических различий не выявлено. Таким образом, исследуемое соединение Рапиталам в дозах 2, 6 и 20 мг/кг и препарат сравнения Леводопа в дозе 60 мг/кг при пероральном введении мышам в течение 10 дней не оказывали влияния на показатели двигательной активности и моторной координации мышей. Также Рапиталам в дозах 1, 3 и 10 мг/кг, как и препарат сравнения Леводопа в дозе 50 мг/кг, не оказал влияния на выраженность галоперидол-индуцированной каталепсии и апоморфин-индуцированной стереотипии у крыс. При введении исследуемым животным оксотреморина наблюдалось статистически значимое снижение степени выраженности тремора на фоне введения Рапиталама в дозах 3 и 10 мг/кг.

Заключение. Рапиталам не оказывает влияния на моторные нарушения, обусловленные дофаминергическими механизмами. Исследуемое соединение обладает выраженным холиноблокирующим эффектом в дозах 3 и 10 мг/кг.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, mGluR4-рецепторы, Рапиталам, холиноблокаторы

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Авдеева Н.В. Изучение механизма действия фармацевтической субстанции Рапиталам *in vivo*. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2019; 26(1): 18–27. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-18-27>

Поступила 08.10.2018
Принята после доработки 19.12.2018
Опубликована 25.02.2019

IN VIVO STUDY OF THE ACTION MECHANISM OF THE RAPITALAM PHARMACEUTICAL SUBSTANCE

Natal'ya V. Avdeeva

Belgorod State National Research University,
Pobedy str., 85, Belgorod, 308015, Russia

Abstract

The aim is to study the action mechanisms of the Rapitalam pharmaceutical substance using Parkinsonian syndrome models.

Materials and methods. Various effects of a new pharmacological substance, N-chlorophenyl-methyl-dihydro-methoxy-methylphenyl-oxopyridazine carboxamide (Rapitalam), were studied in male laboratory mice and rats. During the experiment, the various models of the Parkinsonian syndrome were reproduced: the simulation of the Parkinsonian syndrome by administering 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride (MPTP) neurotoxin, the simulation of haloperidol-induced catalepsy, the simulation of apomorphine-induced stereotypy and the simulation of oxotremorine-induced tremor followed by tests. The following tests were carried out in order to determine the Rapitalam efficacy with regard to symptoms manifested after the MPTP administration in animals: the open field test, the rotarod performance test, as well as the evaluation of the grip strength and the degree of rigidity using the stride length. When simulating the haloperidol-induced catalepsy, a horizontal bar test was performed. After the administration of apomorphine, the severity of stereotypy was assessed in scores. A simulation of oxotremorine-induced tremor in rats was used to study the cholinergic link. After the administration of oxotremorine, the severity of tremor was assessed against the background of administration of the test compounds.

Results. During the analysis of the data obtained in the open field and rotarod tests as well as the stride length and the grip force when simulating the Parkinsonian syndrome by introducing MPTP, no intergroup statistical differences were found. Thus, the tested Rapitalam substance in doses of 2 mg/kg, 6 mg/kg and 20 mg/kg and the Levodopa reference drug at a dose of 60 mg/kg had no effect on the indices of motor activity and motor coordination in mice when administered orally for 10 days. Rapitalam in doses of 1 mg/kg, 3 mg/kg and 10 mg/kg as well as the Levodopa reference drug at a dose of 50 mg/kg, did not affect the severity of haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypy in rats. Under the administration of oxotremorine to laboratory animals, a statistically significant decrease in the severity of tremor was observed during the Rapitalam administration in doses of 3 mg/kg and 10 mg/kg.

Conclusion. Rapitalam is established to have no effect on motor impairment due to dopaminergic mechanisms. The tested substance is characterized by a pronounced cholinoblocking effect at doses of 3 mg/kg and 10 mg/kg.

Keywords: Parkinson's disease, mGluR4 receptors, Rapitalam, cholinoblockers

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

For citation: Avdeeva N.V. *In Vivo Study of the Action Mechanism of the Rapitalam Pharmaceutical Substance.* *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik.* 2019; 26(1): 18–27. (In Russ., English abstract). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-18-27>

Submitted 08.10.2018
Revised 19.12.2018
Published 25.02.2019

Введение

Болезнь Паркинсона является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний в мире. Основной жалобой, появляющейся на начальных стадиях заболевания, является тремор покоя. При прогрессировании заболевания появляются брадикинезия, ригидность, нарушение походки и равновесия [1, 2]. Современные противопаркинсонические средства не способны обеспечить полное излечение от данного заболевания. Внимание ученых всего мира направлено на поиск новых терапевтических мишеней и препаратов, способных улучшить качество жизни пациентов с болезнью Паркинсона на ранних и более поздних стадиях патологии.

Одной из таких мишеней являются метаболитные глутаматные рецепторы (mGluRS), выполняющие множество функций в центральной и периферической нервной системах. mGluRS наряду с другими подтипами глутаматных рецепторов участвуют в передаче возбуждающих сигналов, опосредуемой глутаматом [3, 4]. Известно, что наибольшее количество mGluR4 находится в стриопаллидарном комплексе косвенного пути базальных ганглиев [5, 6]. Наличие дисбаланса между тормозными и возбуждающими влияниями стриопаллидарных ганглиев на таламус лежит в основе патогенеза дрожательной формы болезни Паркинсона [7, 8]. В литературе описано множество исследований, направленных на изучение препаратов, оказывающих влияние на mGluRS [9, 10].

В НИИ Фармакологии живых систем НИУ БелГУ ведутся исследования по изучению фармакологической субстанции Рапиталам, являющейся агонистом mGluR4 рецепторов. Нами уже проведены доклинические исследования, направленные на определение основных параметров фармакокинетики, органного распределения, экскреции, различных видов токсичности фармакологической субстанции Рапиталам [11]. Однако в соответствии с требованиями трансляционной медицины спектр доклинических исследований должен быть расширен изучением механизмов действия исследуемого соединения [12].

Цель исследования: изучение механизмов действия фармацевтической субстанции Рапиталам в сравнении с Леводопой при воспроизведении различных моделей паркинсонического синдрома.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на самцах мышей линии C57Bl/6 9–12-недельного возраста

и крыс линии SD 12–14-недельного возраста. Все животные разделены на 6 групп по 10 особей.

Исследуемый препарат — Н-хлорофенил-метил-дигидро-метокси-метилфенил-оксопиридазина карбоксамид (*N*-[(4-chlorophenyl)methyl]-1,6-dihydro-4-methoxy-1-(2-methylphenyl)-6-oxo-3-pyridazinecarboxamide) — Рапиталам (ООО «Наноапатит»). Препараты сравнения — Леводопа (Sigma). Препараты для воспроизведения моделей *in vivo*: Галоперидол (Haloperidol) (Sigma), Апоморфина гидрохлорид (Sigma), 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина гидрохлорид (МФТП) (Fluorochema), оксотреморин (Sigma), растворитель — Tween 80 (Sigma Aldrich). Рапиталам и препараты сравнения в дозах, указанных для каждой модели отдельно, вводили животным внутривенно один раз в сутки в течение 10 дней. Животным группы контроля вводили растворитель в эквивалентной дозировке.

Для изучения дофаминергических механизмов действия Рапиталама использовались следующие методики: моделирование паркинсонического синдрома путем введения МФТП, моделирование галоперидол-индуцированной каталепсии, моделирование апоморфин-индуцированной стереотипии с проведением последующих тестов.

Моделирование синдрома паркинсонизма, вызванного введением МФТП, воспроизводилось на самцах мышей линии C57Bl/6. Всем группам, кроме Контроль, МФТП вводили внутрибрюшинно в дозе 15 мг/кг в объеме 5 мл/кг 3 раза с интервалом 2 ч за день до начала введения Рапиталама и Леводопы. Таким образом, суммарная доза МФТП составила 45 мг/кг. Введение нейротоксина МФТП приводит к развитию у животных ригидности и олигокинезии [13, 14]. Тесты для оценки влияния Рапиталама на степень проявления паркинсонических симптомов проводили через 1 ч после последнего введения исследуемых веществ.

«Открытое поле» представляет собой круглую арену радиусом 64 см с бортом белого цвета высотой 38 см (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). Пол арены был окрашен в нейтральный темный цвет и разделен радиально на 12 равных секторов и по степени удаленности от центра на 2 зоны: центральную и периферическую (длина каждой 32 см). При помощи меток в системе видеотрекинга животного, подключенной к программе Any-Maze™ (Stoelting Co, USA), в течение 5 мин регистрировали следующие параметры: длину пройденного пути, количество вертикальных стоек с опорой и без опоры.

В качестве «вращающегося стрежня» использовали установку Rotamex 5 (Columbus Instruments). Тестирование проводили после теста «Открытое поле». Мышь сажали на стержень и запускали вращение со скоростью 4 оборота/мин. Каждые 8 сек скорость вращения увеличивали на 1 об/мин до достижения максимальной скорости вращения 40 об/мин. Тестирование каждой мыши проводили в 3 пробы с интервалом в 5 мин. Окончанием пробы считали момент падения мыши со стержня. Регистрировали длительность удержания и скорость вращения, при которой мышь падала со стержня. Для статистической обработки использовали максимальные значения времени и скорости. За день до начала введения препаратов проводили обучение мышей поведению на вращающемся стержне при аналогичных условиях.

Оценку степени ригидности по длине шага проводили через 15 мин после тестирования животных на вращающемся стержне. Правые заднюю и переднюю лапы животного окрашивали пищевыми красителями разного цвета и выпускали пройти по узкому коридору, выстланному миллиметровой бумагой. При помощи линейки измеряли длину шага. Шаги в начале и в конце аллеи не учитывали.

Оценку силы хватки проводили в установке Grip Strength Meter (Bioseb, Франция). Регистрировали силу хватки (в граммах) передних лап на горизонтальном стержне и силу хватки 4-х лап на сетке (в граммах). Для статистической обработки использовали максимальные значения силы хватки.

Моделирование галоперидол-индуцированной каталепсии проводили через 15 мин после 10-го введения животным из всех групп за исключением группы контроля, внутривентриально вводили галоперидол в дозе 1 мг/кг в объеме 1 мл/кг [15]. Через 30, 60, 90, 120, 150 и 180 мин после введения исследуемого соединения и препарата сравнения проводили тест горизонтального стержня. Передние лапы животного осторожно помещали на горизонтальный стержень, расположенный на высоте 5 см над поверхностью стола, т.е. на уровне грудной клетки. Регистрировали латентный период времени, пока животное не снимет обе передние лапы со стержня или влезет на него. Проводили 5 проб в течение 2 минут. В обработку включали максимальное время, зарегистрированное в одной из проб — как характеристику степени выраженности каталепсии.

Моделирование апоморфин-индуцированной стереотипии у крыс производилось путем под-

кожного введения апоморфина гидрохлорида в дозе 0,7 мг/кг в объеме 1 мл/кг через 40 мин после 10-го введения исследуемого соединения и препаратов сравнения [15]. От момента введения апоморфина через 10, 20, 30, 40, 50 и 60 мин в течение 1 мин оценивали выраженность стереотипии в баллах:

1 – единичные стереотипные движения (например, непостоянные принюхивания);

2 – нестойкая стереотипия (интенсивная, непродолжительная, как правило, преобладают принюхивания и стойки);

3 – стойкая (постоянная, интенсивная) отвлекаемая стереотипия (принюхивания чередуются с жеванием/грызением/лизанием либо только жевание/грызение/лизание);

3 – стойкая (постоянная, интенсивная) неотвлекаемая стереотипия.

Для изучения холинергического звена использовалась модель оксотреморин-индуцированного тремора у крыс [15]. Для этого животным из всех групп, за исключением группы контроля, через 30 мин после введения тестируемого соединения и препарата Леводопа внутривентриально вводили раствор оксотреморина в дозе 1,5 мг/кг в объеме 5 мл/кг. Далее регистрировалась степень выраженности тремора и время его угасания.

По завершению исследования всех животных подвергали эвтаназии ингаляцией углекислого газа (CO₂).

Межгрупповое статистическое сравнение проводили при помощи критерия Краскела — Уоллиса с постанализом по критерию Дана. Для статистического сравнения повторяющихся измерений (изменения степени выраженности апоморфин-индуцированной стереотипии, галоперидол-индуцированной каталепсии, 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 (GraphPad Prism 5.0).

Результаты и обсуждение

Моделирование синдрома паркинсонизма путем введения МФТП вызывало у животных появление ригидности и олигокинезии, что проявлялось существенным снижением пройденного пути, увеличением количества и продолжительности стоек с опорой и снижением количества груминга и стоек без опоры. При анализе данных, полученных в тесте «открытое

поле», межгрупповых статистических различий не выявлено. Таким образом, исследуемое соединение Рапиталам в дозах 2, 6 и 20 мг/кг и препарат сравнения Леводопа в дозе 60 мг/кг

при пероральном введении мышам в течение 10 дней не оказывали влияния на показатели двигательной активности мышей в «открытом поле». Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Показатели двигательной активности мышей в «открытом поле»
Table 1. Motor activity indicators of mice in the open field test

Группы крыс	Длина пройденного пути	Стойки с опорой		Стойки без опоры		Груминг	
	м	кол-во	сек	кол-во	сек	кол-во	сек
Контроль	22,5±3,4	8,9±2	6,7±1,1	12±2,3	11,4±1,9	20,1±4,3	23,2±3,8
МФТП	14±1,4	9,5±2,1	16±3,4	9,1±2,1	9,3±1,8	10,3±1,9	25,8±5,0
Леводопа (60 мг/кг) + МФТП	12,6±1,6	21,0±4,0	6,5±1,5	8,3±1,7	8,5±2,5	8,9±1,3	33,1±5,7
Рапиталам (2 мг/кг) + МФТП	10,7±1,6	11,2±1,7	9,8±2,7	22,1±4,4	7,7±2,6	6,7±1,2	28,4±4,9
Рапиталам (6 мг/кг) + МФТП	14,2±2,4	8,1±1,4	21,2±4,9	8,4±3,5	7,1±1,6	10,5±2,4	44,8±9,8
Рапиталам (20 мг/кг) + МФТП	14,3±2,0	8,6±1,4	14±1,6	16,3±3,6	21,5±3,5	8,6±2,3	31,2±5,5

При анализе данных, полученных в тесте «вращающийся стержень», также наблюдается отсутствие межгрупповых различий. Следовательно, исследуемое соединение и препарат сравнения не оказывали влияния на показатели моторной координации мышей. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2. Показатели моторной координации мышей на «вращающемся стержне»
Table 2. Motor coordination indicators of mice in the rotarod test

Группы мышей	Время удержания на стержне, сек	Максимальная скорость, об./мин
Контроль	55,2±8,3	10,0±1,0
МФТП	65,7±2,4	11,7±0,4
Леводопа (60 мг/кг) + МФТП	83,7±8,4	14,2±1,1
Рапиталам (2 мг/кг) + МФТП	73,3±7,3	13,0±0,9
Рапиталам (6 мг/кг) + МФТП	64,8±5	11,7±0,6
Рапиталам (20 мг/кг) + МФТП	66,3±7,3	12,0±0,9

Длина шага и сила хватки также достоверно не изменялись при введении Рапиталама в исследуемых дозах и Леводопы (табл. 3).

Таблица 3. Длина шага и сила хватки мышей, мм
Table 3. Stride length and grip strength of mice, mm

Группы	Длина шага, мм		Сила хватки	
	передние лапы	задние лапы	передние лапы, г	4 лапы — на сетке, г
Контроль	69,9±2	71,2±2,4	87,9±17,0	193,8±21,0
МФТП	64,6±1,1*	64,6±1,6*	86,1±8,7	234,0±18,4
Леводопа (60 мг/кг) + МФТП	66,2±1,2	68,1±1,7	87,9±13,9	187,5±18,1
Рапиталам (2 мг/кг) + МФТП	67,2±1,7	65,6±1,8	48,6±11,4	226,8±24,6

Продолжение таблицы 3

Рапиталам (6 мг/кг) + МФТП	67,0±1,4	65,1±1,8	62,2±3,9	194,2±17,0
Рапиталам (20 мг/кг) + МФТП	65,3±1,5	65,0±1,6	75,4±15,0	188,8±19,9

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Note: * — $p < 0.05$ as compared to the control group.

Введение галоперидола вызывало развитие каталепсии у 100% крыс, через 30 мин степень выраженности каталепсии составила 75,3±5,5 сек, а через 90 мин достигла максимального значения — 120±0 сек. При последующих тестированиях выраженность каталепсии снижалась и через 180 мин после

введения галоперидола достигла уровня значений, зарегистрированных через 30 мин после его введения. Как видно из табл. 4, Рапиталам в дозах 1, 3 и 10 мг/кг, как и препарат сравнения Леводопа в дозе 50 мг/кг, не оказал влияния на выраженность галоперидол-индуцированной каталепсии у крыс.

Таблица 4. Длительность удержания (сек) лап на горизонтальном стержне ($M \pm m$)
Table 4. The duration (sec) of the horizontal bar grip ($M \pm m$)

Группы	Время после введения, мин					
	30	60	90	120	150	180
Контроль	4,2±1,7	5,2±1,4	12,2±4,3	14,5±6,2	9,8±5,3	5,0±1,6
Галоперидол	75,3±5,5*	89,0±13,9*	120,0±0,0*	100,8±8,6*	90,5±11,0*	94,7±10,1*
Леводопа (60 мг/кг) + Галоперидол	89,2±11,5*	87,5±11,4*	106,7±8,4*	95,0±12,0*	106,2±13,8*	93,7±16,7*
Рапиталам (2 мг/кг) + Галоперидол	84,7±15,6*	87,6±9,8*	107,1±9,9*	100,3±7,6*	111,4±8,6*	120,0±0,0*
Рапиталам (6 мг/кг) + Галоперидол	93,3±9,5*	91,8±13,6*	101,8±9,1*	86,8±15,0*	105,0±10,2*	100,8±9,4*
Рапиталам (20 мг/кг) + Галоперидол	93,7±17,4*	93,2±13,3*	99,0±15,8*	111,7±8,3*	105,7±10,8*	106,7±6,1*

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Note: * — $p < 0.05$ as compared to the control group.

При моделировании апоморфин-индуцированной стереотипии через 30 мин наблюдалось максимальное проявление симптоматики у крыс (4±0 балла). В последующие 30 мин происходило снижение выраженности стереотипии у крыс до уровня 2,0±0,4 балла. Введение Рапиталама во всех изучаемых дозах приводило к уменьшению % крыс со стереотипией через 60 мин после введения апомор-

фина. Особенно данное отличие наблюдалось в сравнении с группой апоморфин-индуцированной стереотипии при введении Рапиталама в дозе 3 мг/кг. В целом, можно заключить, что Рапиталам в дозах 1, 3 и 10 мг/кг, как и препарат сравнения Леводопа в дозе 50 мг/кг, практически не оказывал значимого влияния на выраженность апоморфин-индуцированной стереотипии у крыс (табл. 5).

Таблица 5. Выраженность (баллы, %) апоморфин-индуцированной стереотипии у крыс ($M \pm m$)
Table 5. Severity (scores, %) of apomorphine-induced stereotypy in rats ($M \pm m$)

Группы	Ед. изм.	Время после введения апоморфина, мин					
		10	20	30	40	50	60
Контроль	бал.	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	%	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
Апоморфин	бал.	2,8±0,2*	3,7±0,2*	4±0*	3,3±0,2*	3±0*	2±0,4*
	%	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*

Леводопа 50 мг/кг + Апоморфин	бал.	2,2±0,2*	3,5±0,2*	3,5±0,2*	3,5±0,2*	3,0±0,0*	2,5±0,2*
	%	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*
Рапиталам 1 мг/кг + Апоморфин	бал.	3,2±0,3**&	3,5±0,2*	3,2±0,2*	3,0±0,0*	2,8±0,2*	1,8±0,2*
	%	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	88,9±11,1*
Рапиталам 3 мг/кг + Апоморфин	бал.	3,0±0,3	3,2±0,2*	3,3±0,2*	3,2±0,2*	2,7±0,2*	1,3±0,3*&
	%	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	77,8±14,7**&
Рапиталам 10 мг/кг + Апоморфин	бал.	2,5±0,2*	3,2±0,2*	3,3±0,3*	3±0,3*	2,8±0,2*	1,8±0,5*
	%	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	100±0*	88,9±11,1*

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля, # — $p < 0,05$ в сравнении с группой Апоморфина, & — $p < 0,05$ в сравнении с группой Леводопы 50 мг/кг + Апоморфин.

Note: * — $p < 0.05$ as compared to the control group, # — $p < 0.05$ as compared to the Apomorphine group,

& — $p < 0.05$ as compared to the Levodopa 50 mg/kg + Apomorphine group.

При введении исследуемым животным оксотреморина наблюдалось нарастание степени выраженности тремора к 20 мин, уже через 40 мин степень выраженности тремора снижалась, а после 80-й мин тремор не регистрировался (табл. 6). При введении Леводопы в дозе 50 мг/кг обращает на себя внимание достоверное снижение выраженности тремора уже к 20 мин эксперимента,

а к 60-й мин степень выраженности тремора снизилась в 10 раз.

Как представлено в табл. 6, статистически значимо Рапиталам уменьшал степень выраженности тремора в дозах 3 и 10 мг/кг. Введение Рапиталама в дозе 3 мг/кг привело к достоверному снижению выраженности тремора через 50 мин, а в дозе 10 мг/кг — через 30 мин после введения оксотреморина.

Таблица 6. Выраженность оксотреморин-индуцированного тремора у крыс в баллах и % ($M \pm m$)

Table 6. Severity of oxotremorine-induced tremor in rats (scores and %) ($M \pm m$)

Группы	Ед. изм	Время после введения оксотреморина, мин								
		10	20	30	40	50	60	70	80	90
Контроль	бал.	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	%	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
Оксотреморин	бал.	1,8±0,3*	2,0±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
	%	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
Леводопа (50 мг/кг) + Оксотреморин	бал.	1,4±0,2*	1,2±0,3**	1,0±0,2**	1,1±0,1*	0,6±0,2**	0,1±0,1*	0,1±0,1*	0,1±0,1*	0±0
	%	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
Рапиталам (1 мг/кг) + Оксотреморин	бал.	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
	%	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
Рапиталам (3 мг/кг) + Оксотреморин	бал.	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
	%	100±0*	100±0*	88,9±11,1*	100±0*	55,6±17,6*	22,2±14,7*	0±0#	0±0	0±0
Рапиталам (10 мг/кг) + Оксотреморин	бал.	1,3±0,3*	1,4±0,2*	1,0±0,2*	0,8±0,1*	0,2±0,1**	0,2±0,1*	0±0**	0±0*	0±0
	%	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

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля, # — $p < 0,05$ в сравнении с группой Оксотреморина, & — $p < 0,05$ в сравнении с группой Леводопы 50 мг/кг + оксотреморин.

Note: * — $p < 0.05$ as compared to the control group, # — $p < 0.05$ as compared to the Oxotremorine group, & — $p < 0.05$ as compared to the Levodopa 50 mg/kg + Oxotremorine group.

Ранее на культуре клеток с суперэкспрессией mGluR4 нами было показано, что Рапиталам

является позитивным аллостерическим модулятором рецептора mGluR4. Рапиталам концен-

традиционно-зависимо увеличивал клеточный ответ, индуцированный глутаматом.

Исследуя специфическую противопаркинсоническую активность Рапиталама на моделях апоморфин-индуцированной стереотипии, галоперидол-индуцированной каталепсии и паркинсонического синдрома, индуцированного введением МФТП, показано, что Рапиталам не оказывает влияния на моторные нарушения, обусловленные дофаминергическими механизмами.

При анализе результатов, полученных при моделировании оксотреморин-индуцированного тремора, выявлена четкая связь между введением Рапиталама в дозах 3 и 10 мг/кг и снижением выраженности тремора. В результате чего можно с большой долей вероятности полагать, что Рапиталам обладает выраженным холиноблокирующим эффектом.

Холиноблокирующий эффект Рапиталама можно объяснить тем, что активация mGluR4-рецепторов, содержащихся в большом количестве на нейронах бледного шара и черной субстанции [16, 17], приводит к усилению ГАМК-ергического торможения в пути, идущем от данных структур к ядрам таламуса [18]. Далее за счет усиления торможения происходит снижение возбуждения в таламокортикальных путях, что приводит к устранению дисбаланса между тормозными

и возбуждающими влияниями, смещенными в сторону возбуждения, что является патогенетической основой дрожательной формы болезни Паркинсона [19]. В связи со снижением возбуждающего влияния со стороны таламуса происходит уменьшение активности нейронов коры головного мозга, а следовательно, и нейронов стриатума, 1–2% нейронов которого представлены ацетилхолин-содержащими нейронами. Таким образом, снижение активирующего влияния со стороны корковых нейронов приводит к снижению активности и интернейронов стриатума, что, в свою очередь, приводит к снижению уровня ацетилхолина и обуславливает холиноблокирующее действие Рапиталама [20, 21].

Заключение

Полученные результаты исследования позволяют сделать следующие выводы:

- 1) на модели оксотреморин-индуцированного тремора показана дозозависимая активность Рапиталама. Показана высокая эффективность Рапиталама при дрожательных формах болезни Паркинсона;
- 2) Рапиталам не оказывает влияния на моторные нарушения, обусловленные дофаминергическими механизмами;
- 3) Рапиталам обладает выраженным холиноблокирующим эффектом.

Список литературы

1. Chaudhuri K.R., Healy D.G., Schapira A.H. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol.* 2006; 5(3): 235–245. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70373-8
2. Schapira A.H. Neurobiology and treatment of Parkinson's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 2009; 30(1): 41–47. DOI: 10.1016/j.tips.2008.10.005
3. Schoepp D.D., Jane D.E., Monn J.A. Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology.* 1999; 38(10): 1431–1476.
4. 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; 2(3): 86–94. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-86-94
5. Wichmann T., DeLong M.R. Functional neuroanatomy of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 2003; 91: 9–18.
6. Borraud 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; 66(4): 265–283. DOI: 10.1016/S0301-0082(01)00033-8
7. 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. Поволжский регион. Медицинские науки.* 2018; 4: 125–130.
8. 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; 110(3): 403–420. DOI: 10.1016/S0306-4522(01)00591-7
9. Yang Z.-Q. Agonists and antagonists for group III metabotropic glutamate receptors 6, 7, and 8. *Curr. Top. Med. Chem.* 2005; 5(9): 913–918. DOI: 10.2174/1568026054750272
10. Conn P.J., Pin J.-P. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997; 37: 205–237. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.205
11. Avdeeva N.V., Kulikov A.L., Pokrovskii M.V., Avtina T.V. Pharmacokinetic studies of new antipar-

- kinsonian drug Rapitalam. *Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology*. 2016; 2(4): 3–8. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-3-8
12. Bogus S., Galenko-Yaroshevsky P., Suzdalev K. et al. 2-phenyl-1-(3-pyrrolidin-1-il-propyl)-1H-indole hydrochloride (SS-68): antiarrhythmic and cardioprotective activity and its molecular mechanisms of action (Part II). *Research Results in Pharmacology*. 2018; 4(3): 73–86. DOI: 10.3897/rrpharmacology.4.30329
13. Ogawa N., Hirose Y., Ohara S. et al. A simple quantitative bradykinesia test in MPTP treated mice. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1985; 50(3): 435–441.
14. Przedborski S., Vila M. The 1 methyl 4 phenyl 1,2,3,6 tetrahydropyridine mouse model: a tool to explore the pathogenesis of Parkinson's disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 991: 189–198.
15. Воронина Т.А., Вальдман Е.А., Неробкова Л.Н. *Методические указания по изучению антипаркинсонической активности фармакологических веществ*. В кн.: Хабриев Р.У., редактор. *Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ*. М.: Медицина; 2005: 295–307.
16. Johnson K.A., Conn P.J., Niswender C.M. Glutamate receptors as therapeutic targets for Parkinson's disease. *CNS & Neurological Disorders — Drug Targets*. 2009; 8(6): 475–491. DOI: 10.2174/187152709789824606
17. Pisani A., Bernardi G., Ding J., Surmeier D.J. Re-emergence of striatal cholinergic interneurons in movement disorders. *Trends Neurosci.* 2007; 30(10): 545–553. DOI: 10.1016/j.tins.2007.07.008
18. Marino M.J., Conn P.J. Glutamate-based therapeutic approaches: allosteric modulators of metabotropic glutamate receptors. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2005; 6(1): 98–102. DOI: 10.1016/j.coph.2005.09.006
19. 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; 5(9): 885–895. DOI: 10.2174/1568026054750263
20. DiChiara G., Morelli M., Consolo S. Modulatory functions of neurotransmitters in the striatum: ACh/dopamine/NMDA interactions. *Trends Neurosci.* 1994; 17(6): 228–233. DOI: 10.1016/0166-2236(94)90005-1
21. Lester D.B., Rogers T.D., Blaha C.D. Acetylcholine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neurosci. Ther.* 2010; 16(3): 137–162. DOI: 10.1111/j.1755-5949.2010.00142.x

References

1. Chaudhuri K.R., Healy D.G., Schapira A.H. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol.* 2006; 5(3): 235–245. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70373-8
2. Schapira A.H. Neurobiology and treatment of Parkinson's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 2009; 30(1): 41–47. DOI: 10.1016/j.tips.2008.10.005
3. Schoepp D.D., Jane D.E., Monn J.A. Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology*. 1999; 38(10): 1431–1476.
4. 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; 2(3): 86–94. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-86-94
5. Wichmann T., DeLong M.R. Functional neuroanatomy of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 2003; 91: 9–18.
6. 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; 66(4): 265–283. DOI: 10.1016/S0301-0082(01)00033-8
7. Avdeeva N.V., Sidorova S.A., Povetkin S.V. et al. Pozitivnaya allostericheskaya modulyatsiya retseptorov mGluR4 kak potentsial'nyi podkhod k lecheniyu bolezni Parkinsona. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii. Povolzhskii Region. Meditsinskie Nauki*. 2018; 4: 125–130 (in Russ.).
8. 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; 110(3): 403–420. DOI: 10.1016/S0306-4522(01)00591-7
9. Yang Z.-Q. Agonists and antagonists for group III metabotropic glutamate receptors 6, 7, and 8. *Curr. Top. Med. Chem.* 2005; 5(9): 913–918. DOI: 10.2174/1568026054750272
10. Conn P.J., Pin J.-P. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997; 37: 205–237. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.205
11. 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; 2(4): 3–8. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-3-8
12. Bogus S., Galenko-Yaroshevsky P., Suzdalev K. et al. 2-phenyl-1-(3-pyrrolidin-1-il-propyl)-1H-indole hydrochloride (SS-68): antiarrhythmic and cardioprotective activity and its molecular mechanisms of action (Part II). *Research Results in Pharmacology*. 2018; 4(3): 73–86. DOI: 10.3897/rrpharmacology.4.30329

13. Ogawa N., Hirose Y., Ohara S. et al. A simple quantitative bradykinesia test in MPTP treated mice. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1985; 50(3): 435–441.
14. Przedborski S., Vila M. The 1 methyl 4 phenyl 1,2,3,6 tetrahydropyridine mouse model: a tool to explore the pathogenesis of Parkinson's disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 991: 189–198.
15. Voronina T.A., Val'dman E.A., Nerobkova L.N. *Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu antiparkinsonicheskoi aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv.* In.: Khabriev R.U., editor. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu doklinicheskomu izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv.* Moscow: Meditsina; 2005: 295–307 (in Russ.).
16. Johnson K.A., Conn P.J., Niswender C.M. Glutamate receptors as therapeutic targets for Parkinson's disease. *CNS & Neurological Disorders — Drug Targets.* 2009; 8(6): 475–491. DOI: 10.2174/187152709789824606
17. Pisani A., Bernardi G., Ding J., Surmeier D.J. Re-emergence of striatal cholinergic interneurons in movement disorders. *Trends Neurosci.* 2007; 30(10): 545–553. DOI: 10.1016/j.tins.2007.07.008
18. Marino M.J., Conn P.J. Glutamate-based therapeutic approaches: allosteric modulators of metabotropic glutamate receptors. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2005; 6(1): 98–102. DOI: 10.1016/j.coph.2005.09.006
19. 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; 5(9): 885–895. DOI: 10.2174/1568026054750263
20. DiChiara G., Morelli M., Consolo S. Modulatory functions of neurotransmitters in the striatum: ACh/dopamine/NMDA interactions. *Trends Neurosci.* 1994; 17(6): 228–233. DOI: 10.1016/0166-2236(94)90005-1
21. Lester D.B., Rogers T.D., Blaha C.D. Acetylcholine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neurosci. Ther.* 2010; 16(3): 137–162. DOI: 10.1111/j.1755-5949.2010.00142.x

Контактная информация / Corresponding author

Авдеева Наталья Викторовна; тел.: +7 (4722) 30-13-73, +7 (910) 740-04-68; ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия.

e-mail: 7400468@mail.ru

Natalia V. Avdeeva; tel.: +7 (4722) 30-13-73, +7 (910) 740-04-68; Pobedy str., 85, Belgorod, 308015, Russia.

e-mail: 7400468@mail.ru