

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОАДАМАНТАНА НА ЭТАНОЛ-ИНДУЦИРОВАННУЮ АТАКСИЮ, СЕДАЦИЮ И ГИПЕРЛОКОМОТОРНУЮ РЕАКЦИЮ У МЫШЕЙ

Л. Г. Колик, А. В. Надорова, Е. А. Вальдман, С. Б. Середенин¹

В опытах *in vivo* изучено влияние 2 производных аминоадамантиана, являющихся низкоаффинными антагонистами NMDA-рецепторов и обладающих выраженной активностью на экспериментальных моделях паркинсонизма и у пациентов с болезнью Паркинсона, на острые эффекты этанола в эксперименте. Гимантан (гидрохлорид N-2-адамантил-гексаметиленмина) в дозах 5 – 20 мг/кг, внутривентриально, дозозависимо предотвращал вызываемую этанолом атаксию у мышей CD-1, седацию у — C57Bl/6 и гиперлокомоторную реакцию у DBA/2 мышей. Амантадин (1-аминоадамантиан) в дозах 10 – 20 мг/кг, внутривентриально, не обладал способностью ослаблять острые эффекты этанола (2 г/кг, внутривентриально). Гимантан и амантадин не влияли на продолжительность этанолового наркоза (5,5 г/кг, внутривентриально) у мышей CD-1. Полученные данные указывают на отличие фармакодинамического профиля гимантана как низкоаффинного антагониста NMDA-рецептора при взаимодействии с этанолом в дозе, вызывающей нарушение поведения.

Ключевые слова: гимантан; амантадин; этанол-индуцированная атаксия; седация; гиперлокомоторная реакция; мышцы.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушение регуляторных функций глутаматергической системы рассматривается как ключевой патофизиологический фактор в формировании алкоголизма, а также как механизм, который может быть мишенью для фармакотерапии алкогольной зависимости. В опытах *in vitro* этанол действует как аллостерический ингибитор NMDA-рецепторов в дозах, вызывающих нарушение поведения и интоксикацию [17]. Фармакологическая блокада глутаматных рецепторов изменяет поведенческие эффекты этанола. Так, например, антагонисты NMDA-рецепторов воспроизводят субъективные ощущения алкогольной интоксикации у людей и замещают стимулирующие эффекты этанола в тесте лекарственной дифференцировки у мышей [11]. При совместном введении с этанолом антагонисты NMDA-рецепторов усиливают острые эффекты этанола [9].

Аминоадамантианы относятся к классу антагонистов NMDA-рецепторов, которые снижают потребление алкоголя и могут предотвращать вызываемые алкоголем нейрональные изменения и побочные эффекты [10]. Имеющиеся данные в отношении влияния известных препаратов на острые эффекты этанола неоднозначны. Так, неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов мемантин (3,5-диметиладамантиан-1-амин) при введении на фоне действия этанола потенцирует продолжительность алкогольного сна у крыс [7], а при предварительном введении не влияет на продолжительность сна у мышей C57Bl/6 [9].

Амантадин (1-аминоадамантиан) широко используется в клинической практике для лечения болезни Паркинсона [12]. Гимантан (гидрохлорид N-(2-адамантил)гексаметиленмина) — оригинальный препарат, обладающий выраженной активностью, не уступающей амантадину, на экспериментальных моделях паркинсонизма и дискинезий [2, 5] и в клинике у пациентов с начальными стадиями болезни Паркинсона [6]. Механизм действия, включающий дофаминергический компонент [1], блокаду ионных каналов глутаматных рецепторов NMDA-подтипа [4] и ингибирование MAO-B [3] позволяют предположить фармакологическую активность гимантана на моделях алкоголизма. Цель работы — оценка влияния гимантана и амантадина на острые эффекты этанола в опытах *in vivo*.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на мышцах-самцах CD-1 ($n = 165$), DBA/2 ($n = 85$) и C57Bl/6 ($n = 47$) массой 18 – 24 г (ФГБУН “Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства”, филиал “Столбовая”). Животных содержали по 15 особей в клетке стандарта Т/3 в условиях вивария ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” (температура 21 – 23 °С, относительная влажность воздуха 40 – 60 %) при естественной освещенности и свободном доступе к воде и брикетированному корму в течение 10 сут до начала тестирования в соответствии с приказом МЗ РФ № 708н от 23.08.2010 “Об утверждении Правил лабораторной практики”.

Гимантан (N-(2-адамантил)гексаметиленмина гидрохлорид, разработан и синтезирован в ФГБНУ “НИИ

¹ ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова”, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

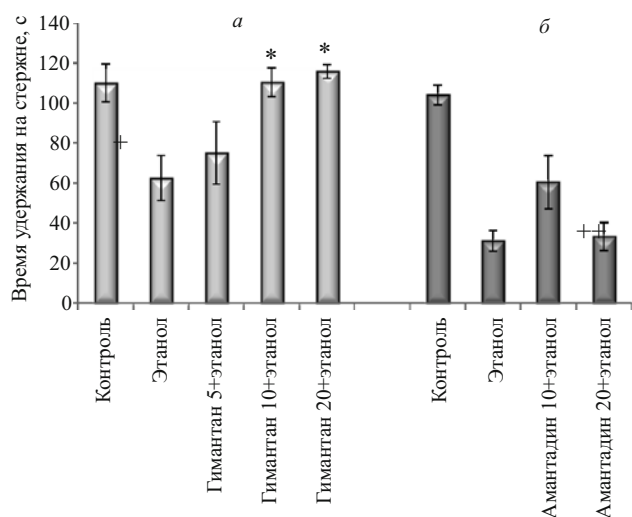


Рис. 1. Влияние гимантана (а) и амантадина (б) на время удержания на стержне мышей CD-1 в тесте “вращающийся стержень” ($M \pm SEM$).

Примечание: + — $p < 0,05$, ++ — $p < 0,01$ — по сравнению с соответствующим контролем, * $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей группой “Этанол” согласно тесту множественных сравнений средних рядов для всех групп; а) Краскел-Уолес тест $H(4, N = 62) = 22,05495$, $p = 0,0002$; б) Краскел-Уолес тест $H(3, N = 43) = 17,73827$, $p = 0,0005$; количество животных в группе $n = 10 - 16$.

фармакологии им. В. В. Закусова”) применяли в дозах 5, 10 и 20 мг/кг внутривенно (в/в), амантадин (1-аминоадамантина гидрохлорид, субстанция, Sigma Aldrich) в дозах 10 и 20 мг/кг в/в. Исследуемые соединения растворяли в воде для инъекций и вводили однократно из расчета 0,1 мл/10 г массы тела животного. Спирт этиловый ректифицированный из пищевого сырья “Экстра” (ГОСТ Р 51652-2000) разбавляли водой до 20 и 25 об. %. Животные контрольных групп получали воду для инъекций.

Тест “вращающийся стержень”. Влияние изучаемых препаратов на миорелаксацию и координацию движений (атаксию) оценивали в тесте “вращающийся стержень” на мышцах-самцах CD-1 ($n = 105$).

Установка представляет собой приподнятый на высоту 25 см стержень диаметром 2 см, разделенный 7 дисками на 6 одинаковых частей, с фиксированной скоростью вращения 16 об/мин. Предварительно проводили фоновое тестирование животных на установке в течение 120 с. Критерием включения животных в

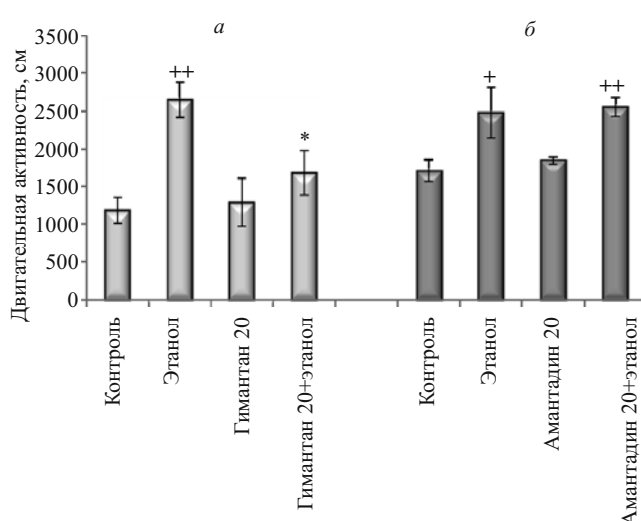


Рис. 2. Влияние гимантана (а) в дозе 20 мг/кг и амантадина (б) в дозе 20 мг/кг на этанол-индуцированную гиперлокомоторную реакцию у мышей DBA/2 ($M \pm SEM$).

Примечание: + — $p < 0,05$, ++ — $p < 0,01$ — по сравнению с соответствующим контролем; * $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей группой “этанол” согласно тесту Дункана; а) ANOVA $F(3, 35) = 6,1694$, $p = 0,00177$; б) ANOVA $F(3, 42) = 4,5937$, $p = 0,00720$; критерий Шапиро – Уилкса, $p > 0,05$; количество животных в каждой группе $n = 8 - 12$.

эксперимент служило время удержания на стержне более 90 с. Гимантан и амантадин вводили через 15 мин после введения этанола в дозе 2 г/кг (20 % раствор) за 30 мин до тестирования. Время тестирования составляло 120 с. Регистрируемый показатель — время удержания на стержне.

Влияние изучаемых препаратов на спонтанную двигательную активность мышей оценивали в актометре Opto-Varimex 4 (Columbus Instruments, США).

Установка представляет собой квадратную плексигласовую арену со сторонами 42 × 42 см и высотой 20 см. По периметру арены расположены 4 пары чувствительных оптических датчиков ($\lambda = 875$ нм) на высоте 2 см от пола, автоматически передающих показатели двигательной активности животных на блок управления, соединенный с компьютером. Горизонтальную активность животных регистрировали в течение 10 или 15 мин в зависимости от дизайна эксперимента.

Таблица 1. Влияние гимантана (20 мг/кг) на этанол-индуцированное угнетение двигательной активности у мышей C57Bl/6 ($M \pm SEM$)

5-минутный интервал	Двигательная активность, см			
	Контроль ($n = 11$)	Этанол ($n = 12$)	Гимантан ($n = 12$)	Гимантан + этанол ($n = 12$)
1 – 5 мин	1373,8 ± 227,3	1434,8 ± 119,7	1293,0 ± 93,0	1328,1 ± 134,5
6 – 10 мин	1251,1 ± 198,4	1003,1 ± 120,0	1371,0 ± 94,8	1131,7 ± 234,9
11 – 15 мин	1172,7 ± 151,2	636,5 ± 60,3 ⁺⁺	1144,1 ± 69,3	1005,8 ± 110,3*

Примечание: ⁺⁺ — $p < 0,01$ — статистически значимо по сравнению с соответствующим контролем; * $p < 0,05$ статистически значимо по сравнению с соответствующей группой “Этанол” согласно тесту Дункана; ANOVA $F(3, 43) = 5,8974$, $p = 0,00183$, критерий Шапиро — Уилкса $p > 0,05$, n — число животных.

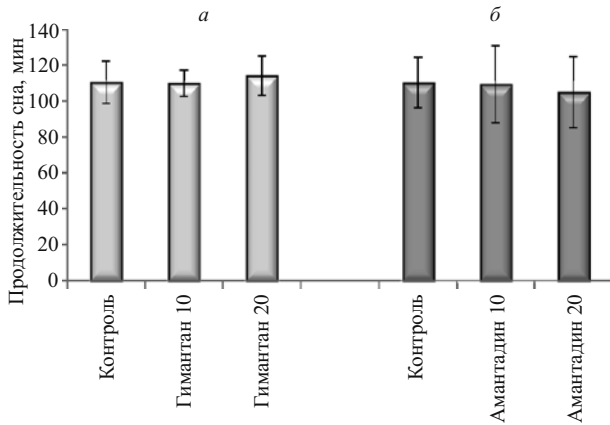


Рис. 3. Влияние гимантана (*а*) и амантадина (*б*) на продолжительность этанолового наркоза у мышей CD-1 ($M \pm SEM$). *а*) Краскел — Уолес тест Н (2, N = 37) = 0,3329958, $p = 0,8466$; *б*) Краскел — Уолес тест Н (2, N = 23) = 0,0607692, $p = 0,9701$; количество животных в каждой группе $n = 7 - 15$; по оси абсцисс представлены экспериментальные группы, по оси ординат — продолжительность сна (мин).

Тест “этанол-индуцированное угнетение двигательной активности”. В опыте использовали мышей-самцов линии C57Bl/6 ($n = 47$) в соответствии с методикой, описанной [14]. Животных тестировали в актометре, регистрируя в течение 15 мин число горизонтальных движений (в см). Рассчитывали показатель горизонтальной активности животных за 5-минутные интервалы. Гимантан в дозе 20 мг/кг вводили за 30 мин до введения этанола в дозе 2 г/кг внутрибрюшинно (20 % раствор), после чего сразу же регистрировали двигательную активность.

Тест “этанол-индуцированная гиперлокомоторная реакция”. В опыте использовали мышей-самцов линии DBA/2 ($n = 85$). Гимантан (20 мг/кг) и амантадин (20 мг/кг) вводили за 30 мин до введения этанола (2 г/кг, 20 % раствор, внутрибрюшинно) или воды для инъекций, после чего сразу регистрировали двигательную активность в течение 10 мин. Рассчитывали суммарный показатель горизонтальной активности мышей за 10 мин.

Тест “этаноловый наркоз”. Влияние изучаемых препаратов на активность этанол-метаболизирующих систем и чувствительность ЦНС к этанолу исследова-

ли с помощью теста “этаноловый наркоз”. В опыте использовали мышей-самцов CD-1 ($n = 60$). Животным вводили этанол в дозе 5,5 г/кг, вызывающей развитие алкогольного сна. Мышей размещали на ровной горизонтальной поверхности при постоянной комнатной температуре и регистрировали время наступления и окончания этанолового наркоза по принятию “бокового положения” и самостоятельному устойчивому выходу из него. Гимантан (10 и 20 мг/кг) и амантадин (10 и 20 мг/кг) вводили через 15 мин после инъекции этанола (5,5 г/кг, 25 % раствор, в/б).

Обработку полученных результатов проводили при помощи теста Краскела — Уоллиса с последующим использованием теста множественных сравнений средних рядов для всех групп и однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим использованием теста Дункана. Проверку нормальности распределения данных осуществляли с помощью критерия Шапиро — Уилкса. Критический уровень значимости $\alpha = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка влияния гимантана и амантадина на этанол-индуцированную миорелаксацию у мышей CD-1. В тесте “вращающийся стержень” этанол статистически значимо снижал время удержания мышей на стержне, по сравнению с контрольной группой. Гимантан дозозависимо ослаблял проявления этанол-индуцированной миорелаксации и атаксии, в дозах 10 и 20 мг/кг статистически значимо увеличивал время пребывания животных на “вращающемся стержне” ($p < 0,05$), (рис. 1, *а*). Амантадин в дозах 10 и 20 мг/кг не оказывал влияния на миорелаксацию, вызванную этанолом (рис. 1, *б*). Полученные данные свидетельствуют о различном характере взаимодействия этанола в низкой дозе 2 г/кг с гимантаном и амантадином у мышей CD-1.

Оценка влияния гимантана на этанол-индуцированное угнетение двигательной активности у мышей C57Bl/6. Для подтверждения полученных данных о способности гимантана устранять миорелаксацию и атаксию, индуцированную этанолом, проведено изучение действия препарата в наиболее эффективной дозе 20 мг/кг на нарушенную этанолом двига-

Таблица 2. Сравнительная характеристика влияния неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторов на индуцированные этанолом острые эффекты в опытах *in vivo*

Неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов	Этанол-индуцированные		
	атаксия	стимуляция	сон
МК-801	↑	↓	↑
Мемантин	↑	о.и.	— (↑)
Амантадин	—	—	—
Гимантан	↓	↓	—

Примечание: “↑” — усиление, “↓” — ослабление, “—” — отсутствие эффекта, о.и. — отсутствие информации. Составлено на основе данных литературы и собственных исследований.

тельную активность мышей C57Bl/6. Известно, что этанол у мышей данной линии вызывает наиболее выраженную седацию [14]. Этанол после однократного внутрибрюшинно введения в дозе 2 г/кг статистически значимо сокращал горизонтальную двигательную активность мышей в интервале с 11 по 15 мин, по сравнению с контрольной группой (табл. 1), что согласуется с ранее опубликованными данными [14]. Гимантан при введении в дозе 20 мг/кг за 30 мин до этанола предотвращал формирование вызываемой этанолом седативной реакции ($p < 0,05$). Гимантан в этой же дозе не изменял спонтанную двигательную активность интактных мышей C57Bl/6. Результаты подтверждают данные, полученные в тесте “вращающийся стержень”, и указывают на способность гимантана уменьшать центральное действие этанола в низкой дозе у мышей.

Оценка влияния гимантана и амантадина на этанол-индуцированную гиперлокомоторную реакцию у мышей DBA/2. В эксперименте использовали мышей линии DBA/2, у которых, в отличие от мышей C57Bl/6, этанол в дозе 0,25 – 2,0 г/кг вызывает стимуляцию двигательной активности [14, 16]. Показано, что этанол в дозе 2 г/кг в/б увеличивал двигательную активность животных по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$). Гимантан (20 мг/кг) и амантадин (20 мг/кг) при однократном введении не изменяли поведение интактных животных. Гимантан статистически значимо ослаблял ($p < 0,05$) гиперлокомоторную реакцию, вызываемую этанолом (рис. 2, а), в отличие от амантадина, который в той же дозе не влиял на этанол-индуцированную стимуляцию поведения (рис. 2, б).

Влияние гимантана и амантадина на продолжительность этанолового наркоза у мышей CD-1. Этанол в дозе 5,5 г/кг внутрибрюшинно у мышей CD-1 вызывал развитие алкогольного сна. Гимантан (10 и 20 мг/кг) и амантадин (10 и 20 мг/кг) не влияли на длительность наркоза у мышей CD-1 (рис. 3).

В настоящей работе впервые изучено взаимодействие 2 неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторов производных аминоксантамина (гимантана и амантадина) с этанолом в опытах на аутбредных CD-1 и инбредных мышцах C57Bl/6 и DBA/2 с разной чувствительностью к стимулирующему действию этанола. На основании данных об отсутствии у гимантана самостоятельного влияния на координацию движений в широком диапазоне доз [2] установлено, что гимантан дозо-зависимо препятствовал проявлению этанол-индуцированной миорелаксации и атаксии в тесте “вращающийся стержень”, что было подтверждено на инбредных мышцах C57Bl/6, чувствительных к седативному действию этанола, у которых регистрировали динамику восстановления спонтанной двигательной реакции в течение 15 мин. Выявленное свойство гимантана отличает его от амантадина, не влияющего на нарушаемую этанолом координацию движений, и ме-

мантина, потенцирующего атаксию, спровоцированную этанолом [9].

Известно, что высокоаффинные лиганды NMDA-рецепторов обладают многочисленными побочными эффектами, которые ограничивают их терапевтическое использование. Показанное отсутствие влияния низкоаффинного неконкурентного антагониста NMDA-рецепторов гимантана при однократном и субхроническом введении на спонтанную двигательную активность у крыс [2] согласуется с нашими результатами. Гимантан в эффективной дозе 20 мг/кг не обладал стимулирующим действием у инбредных мышей DBA/2 и C57Bl/6. При однократном введении этанола у мышей DBA/2, высокочувствительных к стимулирующему действию этанола, развивалась гиперлокомоторная реакция, которая ослаблялась под действием гимантана. Сходный эффект описан при введении неконкурентных блокаторов NMDA-рецепторов МК-801 [8] и кетамина [15]. В отличие от гимантана, амантадин не влиял на индуцированную этанолом стимуляцию поведения у мышей DBA/2.

Гимантан не изменял время нахождения CD-1 мышей в “боковом” положении после введения этанола в наркотической дозе, что соответствует результатам, полученным на крысах [2], и коррелирует с данными о свойствах мемантина [9]. Амантадин также не проявлял активности в данном тесте (табл. 2).

Полученные результаты указывают на новые свойства гимантана и его отличительные особенности в отношении взаимодействия с этанолом в низких дозах, по сравнению с высокоаффинными антагонистами NMDA-рецепторов (МК-801) и низкоаффинными антагонистами NMDA-рецепторов (мемантином и амантадином). Уникальный фармакодинамический профиль гимантана, по-видимому, определяется комплексным механизмом действия, сочетающим неконкурентную блокаду NMDA-рецепторов при значительно меньшей аффинности к NMDA-рецепторам, чем МК-801 и мемантин, модулирующее действие на дофаминовые и серотониновые рецепторы и ингибирование MAO-B. Полученные результаты позволяют продолжить изучение гимантана на экспериментальных моделях алкоголизма в качестве потенциального средства для купирования нарушений, возникающих при алкогольной интоксикации.

ВЫВОДЫ

1. Гимантан при однократном введении дозозависимо ослабляет индуцированную этанолом миорелаксацию и атаксию, седативную и гиперлокомоторную реакцию у мышей, что отличает его от амантадина.

2. Гимантан и амантадин в эффективных дозах 10 и 20 мг/кг не влияют на продолжительность этанолового наркоза у мышей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. А. Абаимов, И. А. Зимин, Г. И. Ковалёв, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **71**(1), 18 – 21 (2008).
2. Е. А. Вальдман, *Автореф. дис. док. мед. наук*, Москва (2001).
3. Е. А. Вальдман, И. Г. Капица, Л. Н. Неробкова и др., *Биомед. химия*, **50**, 509 – 514 (2004).
4. М. В. Елшанская, А. И. Соболевский, Е. А. Вальдман, Б. И. Ходоров, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **64**(1), 18 – 21 (2001).
5. И. Г. Капица, Е. А. Иванова, А. В. Непоклонов и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **74**(7), 9 – 12 (2011).
6. Е. В. Катунина, А. В. Петрухова, Г. Н. Авакян и др., *Ж. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, **108**(6), 24 – 27 (2008).
7. D. B. Beleslin, N. Djokanović, D. Jovanović, *Mičićetal., Alcohol*, **14**(2), 167 – 173 (1997).
8. J. Broadbent, K. M. Kampmueller, S. A. Koonse, *Psychopharmacol. (Berl.)*, **167**(3), 225 – 234 (2003).
9. Y. C. Chen, A. Holmes, *Neuropsychopharmacology*, **34**(6), 1454 – 1466 (2009).
10. T. Escher, S. B. Call, C. D. Blaha, G. Mittleman, *Psychopharmacol. (Berl.)*, **187**(4), 424 – 434 (2006).
11. J. T. Gass and M. F. Olive, *Biochem. Pharmacol.*, **75**(1), 218 – 265 (2008).
12. G. Hubsher, M. Haider, M. S. Okun, *Neurology*, **78**(14), 1096 – 1099 (2012).
13. N. M. Idrus, N. N. McGough, E. P. Rileyet, et al., *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **35**(2), 355 – 364 (2011).
14. L. C. Melon, S. L. Boehm 2nd., *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **35**(7), 1351 – 1360 (2011).
15. P. J. Meyer, T. J. Phillips, *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **27**(11), 1701 – 1709 (2003).
16. J. H. Rose, E. S. Calipari, T. A. Mathews, et al., *PLoS One*, **8**(12), 1 – 10 (2013).
17. M. Xu, C. T. Smothers, J. J. Woodward, *Alcohol*, **45**(4), 373 – 380 (2011).

Поступила 26.01.16

PECULIARITIES OF THE EFFECT OF AMINOADAMANTANE DERIVATIVES ON ETHANOL-INDUCED ATAXIA, SEDATION, AND HYPERLOCOMOTION IN MICE

L. G. Kolik, A. V. Nadorova, E. A. Val'dman, and S. B. Seredenin

V. V. Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

The influence of two aminoadamantane derivatives representing low-affinity NMDA receptor antagonists, which show antiparkinsonian-like activity both in animal models and in patients with Parkinson's disease, have been studied *in vivo* on mice with acute ethanol-induced disorders. N-(adamant-2-yl) hexamethyleneimine hydrochloride (himantane) in doses of 5 – 20 mg/kg, i.p., dose-dependently prevented ethanol-induced ataxia in CD-1 mice, sedation in C57Bl/6 mice, and hyperlocomotion in DBA/2 mice. At the same time, 1-aminoadamantane (amantadine) in doses of 10 – 20 mg/kg, i.p., did not attenuate acute ethanol-induced (2 g/kg, i.p.) effects. Neither himantane nor amantadine influenced the duration of ethanol narcosis (5.5 g/kg, i.p.) in CD-1 mice. The obtained data showed a difference of the pharmacodynamic profile of himantane as low-affinity NMDA receptor antagonist in interaction with ethanol at doses inducing behavioral disorders.

Keywords: himantane; amantadine; ethanol-induced ataxia; sedation; hyperlocomotion; mice.