УДК 615.212

DOI: 10.15372/KhUR2023518

EDN: ZMTTJG

Противовоспалительная и анальгетическая активность азаадамантанов – аналогов амантадина

И. В. СОРОКИНА, Ю. В. МЕШКОВА, С. В. АЙДАГУЛОВА, Т. Г. ТОЛСТИКОВА, К. Ю. ПОНОМАРЕВ, Е. В. СУСЛОВ, К. П. ВОЛЧО, Н. Ф. САЛАХУТДИНОВ

Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск (Россия)

E-mail: sorokina.irina55@gmail.com

Аннотация

Исследована противовоспалительная и анальгетическая активность трех аналогов амантадина **1** – азаадамантанов, содержащих атомы азота в полициклическом каркасе: 5,7-диметил-1,3-диазаадамантан-6-она **2**, 6-амино-5,7-диметил-1,3-диазаадамантана **3** и 7-амино-1,3,5-триазаадамантана **4**. Эксперименты проводили на самцах мышей линий CD1 и CBA. Соединения вводили внутрибрюшинно в дозах 20 и 50 мг/кг. Противовоспалительную активность определяли на стандартных моделях гистаминового и конканавалинового воспаления с введением флогогенов в апоневроз задней лапы. Для оценки анальгетической активности использовали тесты “горячая пластина” и “уксусные корчи”. Показано, что введение гетероатомов в адамантановое ядро не уменьшает противовоспалительную активность диазаадамантанов (**2, 3**) и усиливает таковую у триазаадамантана (**4**) по сравнению с амантадином. Модификация адамантанового остова атомами азота приводит к изменению анальгетических свойств молекулы, что проявляется в гипералгезии в тесте “уксусные корчи”. Данный феномен предположительно связан с влиянием азааналогов амантадина на ноцигенные каналы переменного рецепторного потенциала (TRPV1).

Ключевые слова: амантадин, азаадамантаны, противовоспалительная, анальгетическая активность

ВВЕДЕНИЕ

Производные адамантана остаются в центре внимания как источник биологически активных соединений с разнообразной фармакологической активностью. В последние десятилетия они вызывают интерес, прежде всего, как модуляторы глутаматных AMPA (α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты) и NMDA (N-метил-*D*-аспартата) рецепторов с целью фармакологической коррекции нейродегенеративных процессов и схожих с ними по симптоматике патологий, включая постковидный синдром. Применение блокаторов NMDA-рецепторов на основе аминопроизводных адамантана: амантадина, мемантина, гимантана и их синтетических аналогов, свидетельствуют о целесообразности дальнейшего поиска агентов в этом классе соединений. Несмотря на то, что амантадин остается привлекательной синтетической платформой для получения на его основе новых модуляторов нейротрансмиттерных систем, перспективными нейротропными агентами могут стать азаадамантаны – азотсодержащие аналоги адамантана, в каркасе которых один или несколько атомов углерода замещены на азот. Они обладают меньшей липофильностью в сравнении с адамантановыми аналогами, что оказывает влияние на их биодоступность и взаимодействие с биологическими мишенями. Наличие у производных азаадамантанов разнообразной биологической активности, включая анальгетическую [1, 2], противовирусную [3, 4], антибактериальную [5, 6], противоопухолевую [7] и другие [8], в сочетании

© Сорокина И. В., Мешкова Ю. В., Айдагулова С. В., Толстикова Т. Г., Пономарев К. Ю., Суслов Е. В., Волчо К. П., Салахутдинов Н. Ф., 2023

с умеренной токсичностью и простотой получения делает их перспективными объектами для синтеза и изучения в качестве новых биологически активных соединений. В настоящее время в литературе отсутствуют данные по изучению нейропротекторных свойств производных адамантана, содержащих атом азота в полициклическом каркасе адамантана.

Цель данной работы – исследование противовоспалительной и анальгетической активности ряда азаадамантанов. Известно, что эти виды фармакологической активности могут вносить существенный вклад в механизмы нейропротекторного действия средств, используемых в терапии болезней Паркинсона, Альцгеймера, старческой деменции, а также ремиттирующе-рецидивирующего типа рассеянного склероза [9–11].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Исследуемыми веществами являлись коммерчески доступный аминоадамантан гидрохлорид (амантадин, **1**, Roth, ≥99 %) и его полициклические азотистые аналоги, содержащие атомы азота в узловых местах адамантанового каркаса: 5,7-диметил-1,3-диазаадамантан-6-он **2**, 6-амино-5,7-диметил-1,3-диазаадамантан **3** и 7-амино-1,3,5-триазаадамантан **4**, синтезированные в соответствии с методиками [2, 12] и представленные на рис. 1.

Эксперименты проводили на мышах-самцах линии CD-1 массой 20–25 г и линии СВА массой 25–30 г, полученных из вивария ФИЦ ИЦиГ СО РАН (Новосибирск). Животных содержали в стандартных условиях с контролируемой температурой и влажностью, 12-часовым циклом света и темноты, со свободным доступом к воде и стандартному гранулированному корму. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с законодательством Российской Федерации согласно ГОСТ 33044-2014 “Принципы надлежащей лабораторной практики” и положениями Директивы 2010/63/EU Парламента ЕС и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых в научных целях. Дизайн экспериментов и методы, использованные в работе, были одобрены биоэтической комиссией НИОХ СО РАН (Новосибирск), протокол № Р-14-2023-04-01.

Методы исследования

В работе использовали экспериментальные модели острого воспаления и боли, рекомендованные при проведении доклинических испытаний [13]. Изучаемые соединения **1–4** вводили внутрибрюшинно в дозах 20 и 50 мг/кг в виде суспензии в воде для инъекций с 0.5 % Твин-80. Группе сравнения вводили тем же способом нестероидное противовоспалительное средство индометацин (Fluka Bio Chemika) в эффективной дозе 20 мг/кг [14], контрольной группе – эквивалентное количество воды с Твин-80.

В модели острого экссудативного воспаления, вызванного гистамином, мышей CD-1 рандомизировали на 10 групп по 8 особей в каждой. Водный раствор гистамина в концентрации 0.01 % (Sigma Aldrich) вводили в апоневроз задней лапы всем животным в объеме 0.05 мл через 1 ч после введения изучаемых агентов. Коллатеральная лапа оставалась интактной. Спустя 5 ч мышей забивали путем цервикальной дислокации позвоночника, отсекали обе задние лапы, определяли массу каждой. Противовоспалительный эффект оценивали по величине индекса отека (ИО), который определяли как отношение разности масс воспаленной и интактной лап к массе интактной лапы, выраженное в процентах.

В модели псевдоаллергического воспаления, вызванного конканавалином А, использовали 80 мышей-самцов линии СВА массой 25–30 г, которых делили на 10 групп. Изучаемые агенты вводили дважды с интервалом 24 ч, как указано выше. Через 1 ч после последнего введения животным всех групп вводили в заднюю лапу субплантарно раствор конканавалина А (Sigma Aldrich) 0.5 мг/мл в объеме 0.01 мл на 10 г массы тела. Коллатеральная лапа оставалась интактной. Через 1 ч мышей забивали путем цервикальной дислокации позвоночника, отсекали обе задние лапы, взвешивали каждую и определяли ИО лапы как указано в предыдущей модели.

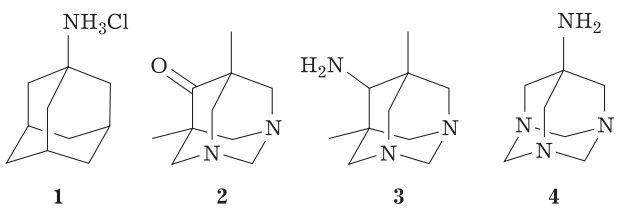

Рис. 1. Химические структуры изучаемых соединений – аминоадамантана гидрохлорид (амантадин) **1**; 5,7-диметил-1,3-диазаадамантан-6-он **2**; 6-амино-5,7-диметил-1,3-ди-аза-адамантан **3**; 7-амино-1,3,5-триазаадамантан **4**.

В модели термической боли использовали тест “горячая пластина”. Мышей CD-1 рандомизировали на 10 групп по 6 особей в каждой. Термическое раздражение вызывали через 1 ч после введения изучаемых соединений путем помещения животного на пластину, нагретую до 54 °C и отмечали время до первого отдергивания (облизывания) лапы или прыжка.

В модели висцеральной боли применялся тест “уксусные корчи”. Мышей CD-1 делили на 10 групп по 6 особей в каждой. Висцеральную боль вызывали внутрибрюшинным введением 0.75 % раствора уксусной кислоты в объеме 0.1 мл на 10 г массы тела через 1 ч после введения изучаемых соединений. Выраженность острой болевой реакции определяли по количеству корчей в течение первых 5 мин.

Статистическую обработку результатов проводили методом непараметрического анализа с использованием пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA). Данные представлены в виде медианы и квартильного размаха. Попарное сравнение групп проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p \le 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Противовоспалительная активность азотистых аналогов амантадина

В модели экссудативного воспаления в качестве индуктора-флогогена использовали гистамин, который в естественных условиях выделяется чувствительными нервными окончаниями и эффекторными клетками в очаге воспаления. Гистамин вызывает расширение микроциркуляторных сосудов, повышение проницаемости сосудистой стенки и сенситизацию окончаний болевых нервов. В результате возникает гиперемия, боль и экссудативный отек тканей [15]. Эффективными лекарственными средствами в данном случае являются нестероидные противовоспалительные препараты. В нашем эксперименте превентивное введение азаадамантанов **2–4** и амантадина **1** вызвало у мышей достоверное снижение величины отека лапы, при этом эффект соединений существенно не зависел от дозы (табл. 1).

Наибольшую активность в ряду производных адамантана проявило соединение **4**, снизившее ИО на 38 %, тогда как у остальных величина показателя не превышала 28 %. Все изучаемые агенты достоверно уступали по эффективности индометацину (снижение ИО на 58 %), поэтому их противовоспалительную активность в диапазоне доз 20–50 мг/кг можно оценить как умеренную (см. табл. 1).

В модели псевдоаллергического воспаления, имитирующей реакцию гиперчувствительности немедленного типа, поливалентный лектин конканавалин А вызывает прямую дегрануляцию тучных клеток, что приводит к выбросу медиаторов воспаления, лейкотриенов и других вазоактивных агентов, индуцирующих местное воспаление. В данном случае, преимущество имеют средства, блокирующие мембранные рецепторы тучных клеток и препятствующие их деграну-

ТАБЛИЦА 1

Значения индекса отека (ИО) лапы мышей в модели экссудативного воспаления

Группа	Доза, мг/кг	ИО	ИО относительно контроля, %
Контроль	–	35.9±6.1	100
1	20	$26.5\pm9.2^{***\#\#}$	74
	50	$33.4\pm10.4^{\#\#\#}$	93
2	20	$25.7\pm3.7^{*\#}$	72
	50	$28.8\pm4.5^{**\#\#\#}$	80
3	20	$32.3\pm6.2^{\#\#\#}$	90
	50	$25.7\pm2.4^{***\#\#\#}$	72
4	20	$23.2\pm5.0^{***\#\#\#}$	65
	50	$22.4\pm13.0^{***\#}$	62
Индометацин	20	$15.1\pm4.4^{***}$	42

Примечание. Данные представлены в виде: медиана ± квартильный размах.
$^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ – различия с контролем достоверны.
$^{\#}p < 0.05$, $^{\#\#}p < 0.01$, $^{\#\#\#}p < 0.001$ – различия с индометацином достоверны.

ТАБЛИЦА 2

Значения индекса отека (ИО) лапы мышей в модели псевдоаллергического воспаления

Группа	Доза, мг/кг	ИО	ИО относительно контроля, %
Контроль	–	25.8±7.9	100
1	20	20.1±6.4	78
	50	29.1±5.4$^{\#}$	113
2	20	23.3±6.2	90
	50	20.9±4.4	81
3	20	23.0±9.3$^{\#}$	89
	50	23.1±7.1	89
4	20	21.6±10.8	84
	50	24.5±9.0	95
Индометацин	20	17.6±3.7**	68

Примечание. Данные представлены в виде: медиана ± квартильный размах.
**$p < 0.01$ – различия с контролем достоверны.
$^{\#}p < 0.05$ – различия с индометацином достоверны.

ляции. В условиях данной модели амантадин **1** и его азотистые аналоги **2–4** не проявили значимой противовоспалительной активности, в отличие от индометацина, вызвавшего небольшое, но достоверное уменьшение ИО на 32 % (табл. 2).

Анальгетическая активность азотистых аналогов амантадина

Тест “горячая пластина” служит моделью ноцицепции с вовлечением спинальных и супраспинальных структур, контролирующих поведенческие реакции животного (облизывание лапы, прыжки, вокализация) [13]. Показателем анальгетического эффекта в данном случае является повышение болевого порога на температурный раздражитель.

В результате тестирования животных нами не выявлено достоверных различий в величине порога температурной чувствительности между контролем и опытными группами (табл. 3). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии у азаадамантанов и амантадина, вводимых в диапазоне доз 20–50 мг/кг, способности модулировать болевую перцепцию, вызванную термическим воздействием, как в чувствительных афферентных проводниках, так и в нисходящей антиноцицептивной системе. По литературным данным, анальгетический эффект в условиях этой модели возникает под действием агонистов центральных μ- и δ-опиоидных рецепторов, а также блокаторов неселективных катионных каналов транзиторного рецепторного потенциала (TRP) в окончаниях чувствительных нервов [16]. Отсутствие анальгетического эффекта у индометацина (см. табл. 3) указывает на то, что в данном тесте болевая реакция не связана с воспалением.

В тесте “уксусные корчи” индуцируется соматогенный болевой синдром, связанный с сокращением мышц брюшины при их раздражении слабым раствором уксусной кислоты. Модель воспроизводит острую висцеральную и глубокую соматическую боль, что соответствует клинической картине перитонита. Количество схваткообразных движений тела подсчитывали в течение 5 мин после введения альгогена.

ТАБЛИЦА 3

Показатели порога болевой чувствительности в тесте “горячая пластина”

Группа	Доза, мг/кг	Порог болевой чувствительности, с*
Контроль	–	7.0±1.0
1	20	6.0±1.0
	50	7.0±1.0
2	20	7.0±3.0
	50	6.5±2.0
3	20	6.5±2.0
	50	6.0±3.0
4	20	7.0±1.0
	50	8.0±1.0
Индометацин	20	8.5±2.0

Примечание. Данные представлены в виде: медиана ± квартильный размах.
*$p > 0.05$ – различия с контролем недостоверны.

ТАБЛИЦА 4

Показатели висцеральной боли в тесте “уксусные корчи”

Группа	Доза, мг/кг	Количество корчей за 5 мин
Контроль	–	7.0±4.0
1	20	$10.0\pm8.0^{\#}$
	50	$10.5\pm8.0^{\#\#}$
2	20	$13.5\pm7.0^{*\#\#}$
	50	$13.0\pm7.0^{\#}$
3	20	$11.5\pm6.0^{*\#\#}$
	50	$11.0\pm9.0^{\#}$
4	20	$13.0\pm4.0^{**\#\#}$
	50	$11.0\pm4.0^{*\#\#}$
Индометацин	20	$1.5\pm3.0^{*}$

Примечание. Данные представлены в виде: медиана ± квартильный размах.

$^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$ – различия с контролем достоверны.

$^{\#}p < 0.05$, $^{\#\#}p < 0.01$ – различия с индометацином достоверны.

Результаты тестирования показывают, что введение мышам азотистых аналогов амантадина **2–4** привело к усилению острой висцеральной болевой реакции, которая имела дозозависимый характер (табл. 4). В дозе 20 мг/кг у всех азаадамантанов наблюдалось статистически достоверное (относительно контроля) увеличение числа корчей (в 1.5–1.9 раза), в то время как в дозе 50 мг/кг аналогичный эффект был либо статистически незначимым (у агентов **2** и **3**), либо уменьшался с сохранением достоверных различий с контролем (у соединения **4**) (см. табл. 4). При этом у амантадина **1** повышение болевой реакции было недостоверным в обеих дозах. Референсный препарат индометацин в тех же условиях вызвал существенное снижение болевой реакции – в 4.5 раза против контроля (см. табл. 4).

Химическое раздражение брюшины вызывает местную воспалительную реакцию, которая сопровождается активацией циклооксигеназы второго типа и каскада арахидоновой кислоты. В очаге воспаления повышается уровень эндогенных альгогенов (простагландины, гистамин, серотонин, брадикинин) и ванилоидов, развивается ацидоз. В этих условиях происходит активация кислото-чувствительных ноцигенных каналов переменного рецепторного потенциала (TRPV1) и их лигандов. Одним из них является лейкотриен B4 (LTB4), вызывающий хемотаксис, агрегацию и дегрануляцию нейтрофилов, а также увеличение проницаемости сосудов [17]. Активация TRPV1-каналов повышает активность ноцицепторов периферических чувствительных проводников, что усиливает проведение возбуждения в афферентных путях. Сообщалось, что активация TRPV1 может усиливать глутаматергическую передачу, что наблюдалось в некоторых областях мозга, включая стриатум, паравентрикулярное ядро, стволовые нисходящие антиноцицептивные пути, дорсолатеральную область периакведуктального серого вещества мозга и спинной мозг [18]. Исходя из вышесказанного, можно предположить, что в тесте висцеральной боли гипералгезия, вызванная введением азотистых аналогов амантадина, обусловлена их возможным перекрестным взаимодействием с TRPV1-каналами, а также вследствие недостаточно высокой противовоспалительной активности азаадамантанов. В связи с этим обращает на себя внимание выраженный анальгетический эффект индометацина (см. табл. 4), достигаемый за счет высокой противовоспалительной активности препарата.

На основании полученных результатов можно заключить, что у азотистых аналогов амантадина в диапазоне доз 20–50 мг/кг выявлена умеренная противовоспалительная активность антиэкссудативного типа. Подобным действием обладает и амантадин, что подтверждается литературными данными о его способности снижать продукцию провоспалительных цитокинов в моделях аутоиммунного энцефаломиелита [19, 20]. Введение гетероатомов азота в адамантановое ядро не уменьшает противовоспалительную активность соединений **2** и **3** и усиливает таковую у триазаадамантана **4** по сравнению с амантадином **1**. Противовоспалительные свойства, выявленные у изученных азаадамантанов, могут иметь существенное значение в условиях патологий центральной нервной системы, вызванных первичным или вторичным воспалительным процессом.

Модификация адамантанового остова атомами азота приводит к изменению анальгетических свойств молекулы, что проявилось в виде гипералгезии в тесте “уксусные корчи”. Данный феномен, предположительно связанный с влиянием азааналогов амантадина на ноцигенные каналы переменного рецепторного потенциала (TRPV1), повышает интерес к этим соединениям как возможным модуляторам нейротрансмиссии при коррекции патологических процессов в тканях нервной системы. Данный вопрос требует дальнейшего изучения на специфических фармакологических моделях.

ВЫВОДЫ

1. Ди- и триазапроизводные адамантана в диапазоне доз 20–50 мг/кг проявляют умеренную противовоспалительную активность в модели гистаминового воспаления. Диазаадамантаны не уступают, а триазаадамантан превосходит амантадин по выраженности антиэкссудативного эффекта.

2. Ди- и триазапроизводные адамантана, подобно амантадину, не оказывают противовоспалительного действия в модели аллергогенного воспаления, вызванного конканавалином А, и не влияют на порог термической боли в тесте “горячая пластина”.

3. Азотистые производные адамантана, в отличие от амантадина, усиливают болевую перцепцию в модели висцеральной боли “уксусные корчи” предположительно за счет взаимодействия с TRPV1-каналами. Эффект уменьшается при увеличении дозы с 20 до 50 мг/кг.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 23-25-00428.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Ponomarev K., Pavlova A., Suslov E., Ardashov O., Korchagina D., Nefedov A., Tolstikova T., Volcho K., Salakhutdinov N. Synthesis and analgesic activity of new compounds combining azaadamantane and monoterpene moieties // Med. Chem. Res. 2015. Vol. 24. P. 4146–4156.
2 Ponomarev K., Morozova E., Pavlova A., Suslov E., Korchagina D., Nefedov A., Tolstikova T., Volcho K., Salakhutdinov N. Synthesis and analgesic activity of amines combining diazaadamantane and monoterpene fragments // Med. Chem. 2017. Vol. 13, No. 8. P. 773–779.
3 Вичканова С. А., Горюнова Л. В., Шипулина Л. Д., Бадаев Ф. А., Кузнецов И. А., Толкачев О. Н., Унковский Б. В. Противовирусная активность некоторых производных 1,3,5-триазаадамантана // Фармакология и токсикология. 1974. Т. 37. С. 76–79.
4 Suslov E., Zarubaev V., Slita A., Ponomarev K., Korchagina D., Ayine-Tora D., Reynisson J., Volcho K., Salakhutdinov N. Anti-influenza activity of diazaadamantanes combined with monoterpene moieties // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2017. Vol. 27, No. 19. P. 4531–4535.
5 Pat. US 3575974 A, 1971.
6 Арутюнян Г. Л., Пароникян Р. В., Саакян Г. С., Арутюнян А. Д., Геворкян К. А. Синтез и превращения полиэдрических соединений. 29. Синтез и антибактериальная активность производных 1,3-диазаадамантана // Хим.-фармацевт. журн. 2008. Т. 42, № 1. С. 20–23.
7 Pat. US 20140045779 A1, 2014.
8 Суслов Е. В., Пономарев К. Ю., Волчо К. П., Салахутдинов Н. Ф. Азаадамантаны – новый перспективный каркасный блок для медицинской химии и фармакологии // Биоорг. химия. 2021. Т. 47, № 6. С. 659–682.
9 Sättler M. B., Bähr M. Future neuroprotective strategies // Exp. Neurol. 2010. Vol. 225. P. 40–47.
10 Таллерова А. В., Иванова Е. А., Капица И. Г., Коваленко Л. П., Вальдман Е. А., Воронина Т. А. Влияние противопаркинсонического препарата гимантан на уровень цитокинов в эксперименте // Иммунофармакология. 2013. № 5. С. 254–257.
11 Саядян Х. С., Шкловский В. М. Лекарственные препараты на основе адамантана // Доктор.Ру. 2017. № 1 (130). С. 59–63.
12 Hodge E. B. 7-Nitro-1,3,5-triazaadamantane and derivatives. Reactions of azaadamantanes with anhydrides // J. Org. Chem. 1972. Vol. 37, No. 8. P. 320–321.
13 Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / под общ. ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2013. 944 с.
14 Колла В. Э., Сыропятов Б. Я. Дозы лекарственных средств и химических соединений для лабораторных животных. М.: Медицина, 1998. С. 55.
15 Rozenberg I., Sluka S. H., Rohrer L., Hofmann J., Becher B., Akhmedov A., Soliz J., Mocharla P., Borén J., Johansen P., Steffel J., Watanabe T., Lüscher T. F., Tanner F. C. Histamine H1 receptor promotes atherosclerotic lesion formation by increasing vascular permeability for low-density lipoproteins // Arterioscler., Thromb., Vasc. Biol. 2010. Vol. 30, No. 5. P. 923–930.
16 Stucky C. L., Dubin A. E., Jeske N. A., Malin S. A., McKemy D. D., Story G. M. Roles of transient receptor potential channels in pain // Brain Res. Rev. 2009. Vol. 60. P. 2–23.
17 Гладких И. Н., Синцова О. В., Лейченко Е. В., Козлов С. А. Ионный канал TRPV1: структурные особенности, модуляторы активности, терапевтический потенциал // Успехи биол. химии. 2021. Т. 61. С. 107–154.
18 Chahl L. A. TRP channels and psychiatric disorders // Adv. Exp. Med. Biol. 2011. Vol. 704. P. 987–1009.
19 Sulkowski G., Dąbrowska-Bouta B., Chalimoniuk M. Effects of antagonists of glutamate receptors on pro-inflammatory cytokines in the brain cortex of rats subjected to experimental autoimmune encephalomyelitis // Journal of Neuroimmunology. 2013. Vol. 261. P. 67–76.
20 Fukumoto Y., Miyamoto K., Moriguchi K., Kusunoki S. Amantadine regulates the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis // Neurol. Clin. Neurosci. 2020. Vol. 8. P. 11–15.