

Лифанова Юлия Викторовна

**Фармакологические и токсикологические свойства твердой лекарственной
формы нового к-опиоидного агониста РУ-1205**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат диссертации на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук

Волгоград
2025

Работа выполнена на кафедре фармакологии и биоинформатики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: Спасов Александр Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ

Научный консультант: Бугаева Любовь Ивановна – доктор биологических наук

Официальные оппоненты:

Колик Лариса Геннадьевна – доктор биологических наук, профессор РАН, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», заведующая лабораторией лекарственной токсикологии

Оковитый Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины»

Защита состоится _____

(дата, время)

На заседании диссертационного совета 21.2.005.02 ФГБОУ ВО ВолгГМУ

Минздрава России, Волгоград, пл. Павших Борцов 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

<https://www.volgmed.ru/dissertatsionnye-sovety-volgmu/21-2-005-02/arkhiv/materialy-k-zashchite-lifanovoy-yulii-viktorovny/>

Автореферат разослан _____

(дата)

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук,

доцент

Шаталова Ольга Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы

Для терапии выраженного болевого синдрома применяют опиоидные анальгетики (морфина гидрохлорид, тримеперидин, фентанил и др.) (Осипова Н.А., Абузарова Г.Р., 2010; Manjunath A.K., Bloom D.A., 2023). Кратковременный прием препаратов данной группы сопровождается рядом побочных эффектов, среди которых: угнетение дыхания, гипотония, дискинезия, мышечная ригидность. Хронический прием опиоидных анальгетиков сопровождается развитием наркотической зависимости (аддикции), что является социально значимой проблемой, так как за 10 лет уровень смертности только в США от опиоидов увеличился в 4 раза (Lyden J., Binswanger I.A., 2019). Общее количество опиоидов в миллиграммах морфина (ММЕ), прописываемых в США в год, с 1999 г. почти утроилось (Брюн Е.А., Агibalова Т.В., 2019; CDC Clinical Practice Guideline for Prescribing Opioids for Pain, 2022). Сильнодействующие обезболивающие препараты, содержащие в составе неселективные агонисты опиоидных рецепторов, в Российской Федерации согласно ФЗ № 305 отнесены ко II списку и имеют ряд ограничений для отпуска. Для пациентов, нуждающихся в непрерывном (паллиативном) применении опиоидов, их доступность резко уменьшается (Петров В.И., Каминская И.А., Божко Н. К., 2016).

С целью снижения частоты развития побочных эффектов, вызванных приемом неселективных агонистов опиоидных рецепторов (ОР), ведется разработка новых лекарственных форм известных препаратов, а также новых соединений, проявляющих обезболивающую активность (Хныченко Л.К., Шабанов П.Д., 2021; Иванова Е.А., Воронина Т.А., Коробов Н. В. и др., 2022).

Многообещающей альтернативой общеизвестным опиоидам являются смещенные агонисты к-опиоидных рецепторов (КОР); эти агенты обладают выраженными анальгетическими свойствами, сниженным профилем побочных эффектов и могут применяться перорально (Lazenka M.F., 2022). Необходимость в обезболивающих препаратах, не вызывающих зависимости, очевидна. Разработка опиоидного анальгетика без наркотического потенциала является крайне актуальной задачей (Wang S., 2019; Faouzi A., Varga B.R., 2020). Её решение и внедрение в практическое здравоохранение КОР способно существенно повысить качество жизни больных и снизить социальные потери, связанные с наркотической зависимостью.

Степень разработанности темы

Опиоидные анальгетики являются наиболее широко назначаемыми лекарственными препаратами для терапии острой и хронической боли средней и высокой интенсивности (послеоперационной, неврологической, онкологической и др.) (Manjunath A.K., Bloom D.A., 2023).

В ходе программы по созданию анальгетиков с минимальными морфиноподобными побочными эффектами были синтезированы препараты смешанного действия: агонисты-антагонисты опиоидных рецепторов. Буторфанол тартрат (17-циклобутилметил-3,14-дигидроморфинан) действует как селективный агонист к-рецепторов и частичный агонист μ -рецепторов (Ji J., Lin W., 2020).

В терапевтических дозах препарат проявляет свойства анальгетика более мощного, чем морфин (Dinges H.C., Schubert A.K., 2022), однако также способствуют развитию зависимости как в экспериментах на животных, так и у человека, увеличивая экспрессию генов КОР в гиппокампе (Tanaka S., Fan L.W., 2005).

Динорфин А, α - и β -неоэндорфины, производное эпоксиморфинана – налфлурафин (TRK-820) являются высокоселективным агонистами каппа-опиоидных рецепторов (Chen Y., Chen B., 2023; Wang Y., Zhuang Y., 2023; El Daibani A., Paggi J.M., 2023).

Вовлечение β -аррестина 2 и последующее фосфорилирование p38 играют важную роль в вызывании дисфории при действии агонистов, связанных с КОР на центральную нервную систему (ЦНС) (Gross J.D., 2019; Faouzi A., Varga B.R., 2020). Данные побочные эффекты, такие как седативный эффект, тревога и депрессия, ограничивают применение этих агонистов в клинической практике. Предполагается, что функционально селективные агонисты КОР, которые способны избирательно активировать передачу сигналов G-белка без участия p38 α МАР-киназы, могут иметь терапевтический потенциал в качестве анальгетиков или использоваться как адъюванты для усиления действия других опиоидных анальгетиков, таких как морфин (Faouzi A., Varga B.R., 2020).

Цель исследования – экспериментальное изучение фармакологических и токсикологических свойств твердой лекарственной формы нового каппа-опиоидного агониста, производного бензимидазола – соединения РУ-1205.

Задачи исследования:

1. Изучение анальгетической активности соединения РУ-1205 в форме активной фармацевтической субстанции (АФС) и гранулята таблеток в тестах *in vivo* при однократном введении.
2. Определение механизма опиоидного действия АФС РУ-1205 *in vivo* с использованием антагониста центральных опиоидных рецепторов.
3. Исследование коанальгетических свойств АФС РУ-1205 с адъювантными препаратами.
4. Изучение аддиктивных свойств АФС РУ-1205.
5. Определение острой токсичности твердых лекарственных форм соединения РУ-1205.
6. Исследование хронической токсичности твердых лекарственных форм соединения РУ-1205.
7. Определение репродуктивной токсичности АФС РУ-1205, включая изучение влияния на генеративную функцию и исследование эмбрио- и фетотоксического действия вещества.
8. Изучение ДНК-повреждений под действием АФС РУ-1205 методом щелочного электрофореза отдельных клеток (тест ДНК-комет).

Научная новизна

Впервые изучено коанальгетическое взаимодействие АФС РУ-1205 с различными группами адъювантных препаратов [агонистом альфа-адренорецепторов,

антагонистом дофаминовых рецепторов, агонистами гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), м-холиноблокатором, неизбирательным ингибитором нейронального захвата моноаминов, блокатором натриевых каналов [ЦНС] и более подробно определен механизм фармакологического взаимодействия. Впервые экспериментально подтверждено отсутствие у соединения РУ-1205 аверсивных/аддиктивных свойств и выдвинуто предположение о влиянии на р38-МАРК киназу. Впервые проведено расширенное изучение токсикологических свойств соединения из числа N9-замещенных имидазо[1,2-а]бензимидазола в твердой лекарственной форме (хронической токсичности на двух видах животных, влияние на генеративную функцию, эмбрио- и фетотоксическое действие, а также влияние на геном отдельных клеток).

Теоретическая и практическая значимость работы

Оценены фармакологические и токсикологические свойства агониста КОР – твердой лекарственной формы соединения РУ-1205. Выявленный анальгетический эффект изучаемого соединения сопоставим с препаратами сравнения. Клонидин и мидазолам усиливают обезболивающее действие АФС РУ-1205, в то время как атропин, амитриптилин и карбамазепин – снижают. Габапентин, галоперидол, метоклопрамид и диазепаам не изменяют анальгетических свойств каппа-агониста. Определены параметры острой токсичности (в диапазоне доз 10–5000 мг/кг) АФС и гранулята таблеток соединения РУ-1205. Изучаемое соединение относится к классу малотоксичных веществ. При хроническом, трехмесячном его введении крысам и кроликам обоего пола в дозах 5 и 50 мг/кг не отмечено необратимых патологических изменений в клинических, лабораторных и морфологических показателях систем органов животных. По результатам исследования влияния соединения РУ-1205 в дозах 5 и 500 мг/кг на процессы репродукции крыс обоего пола патологического воздействия не отмечено. Активная фармацевтическая субстанция РУ-1205 в диапазоне доз 5–500 мг/кг не влияет на геном отдельных клеток крыс при внутрижелудочном введении в тесте ДНК-комет. Принимая во внимание полученные результаты, для соединения РУ-1205 определены максимальная рекомендованная начальная доза (МРНД) и фармакологически активная доза (ФАД) для проведения клинических исследований.

Методология и методы исследования

Для изучения ноцицептивной активности его коанальгетического взаимодействия с адьювантными препаратами *in vivo* АФС РУ-1205 и гранулята таблеток использовались рекомендованные модели соматогенной боли (Воронина Т.А., Гузевых Л.С., 2012) (отдергивания хвоста от теплового изучения, горячая пластина). Для оценки положительно-подкрепляющего/наказующего эффекта соединения РУ-1205 использовали тест условного рефлекса избегания места (УРИМ) с ингибитором р38 МАРК-киназы – соединением SB203580. Изучение острой и хронической токсичности проводили согласно методическим рекомендациям по изучению общетоксического действия лекарственных средств (Арзамасцев Е.В., Березовская И.В. и др. 2012) на базе лаборатории токсикологии отдела экспериментальной фармакологии и токсикологии научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством ФГБОУ

ВО ВолгГМУ Минздрав России. Исследование параметров специфической токсичности АФС РУ-1205 проводили согласно методическим рекомендациям по изучению репродуктивной токсичности лекарственных средств (Дурнев А.Д., Смольникова Н.М. и др., 2012), а также рекомендациям по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гелевого электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследованиях (Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К. и др., 2012).

Статистическая обработка полученных результатов, осуществлялась следующими пакетами программ: GraphPad Prism7.0 (GraphPad, США); OriginPro 8 (OriginLab, США); Statistica 10.0 (Dell США), а также программных продуктов Excel из пакета Office XP (Microsoft, США).

Положения, выносимые на защиту:

1. На модели соматогенной боли соединение РУ-1205 в виде гранулята таблеток в дозе 5 мг/кг (в пересчете на АФС) проявляет анальгетическую активность, равную тримеперидину (1 мг/кг).

2. В тесте отдергивания хвоста от теплового излучения (tail flick) анальгетическая активность соединения РУ-1205 в виде АФС (5 мг/кг) изменялась при совместном введении с некоторыми адъювантными препаратами; усиление обезболивающих свойств отмечено в комбинациях с клонидином (1 мг/кг) и мидазоламом (0,3 мг/кг), ослабление – с атропином (2,7 мг/кг), amitриптилином (3 мг/кг) и карбамазепином (15 мг/кг).

3. Изученные общетоксические свойства соединения РУ-1205 при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам позволяют отнести АФС и гранулят таблеток к 3-му умеренно опасному классу (согласно ГОСТ 12.1.007-76). При хроническом (3 месяца) пероральном введении АФС и гранулята таблеток РУ-1205 в дозе 5 мг/кг крысам и кроликам обоего пола не отмечено влияния на строение, функции органов и систем животных. В дозе 50 мг/кг микроскопически фиксировались единичные обратимые изменения печени; АФС и ГТ в дозе 500 мг/кг провоцировали необратимые отклонения в функциях и строении печени. При исследовании параметров специфической токсичности: репродуктивной и при оценке ДНК-повреждений под действием АФС РУ-1205 в диапазоне доз от 5 до 500 мг/кг негативного влияния не зафиксировано.

Степень достоверности и апробация результатов

Согласно сформулированным задачам и в соответствии с актуальными методологическими подходами были получены экспериментальные данные, подвергшиеся тщательной статистической обработке.

Основные положения диссертационной работы представлялись и обсуждались на VII Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения» (Пятигорск, 04–05 декабря 2018 года); 77-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 24–27 апреля 2019 года); XXIV Региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области (Волгоград, 09 декабря 2019 года); научной конференции «Современное состояние проблем фармации и фармакологии Дальнего Востока России и стран Азиатско-Тихоокеанского региона» в рамках I Дальневосточного международного медицинского конгресса (13 октября 2020

года, г. Хабаровск); 78-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов: «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 14–16 октября 2020 года); XXV Региональной Конференции молодых учёных и исследователей Волгоградской области (Волгоград, 24 ноября 2020 года); 79-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов: «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 21–23 апреля 2021 года); 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием «Медхим-Россия 2021» (Волгоград, 16–19 мая 2022 года); VI съезде фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства» (Московская область, 20–24 ноября 2023 года).

По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 7 в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Структура и объем работы

Диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук изложена на 182 страницах машинописного текста. Состоит из введения, 9 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, перечня сокращений и условных обозначений и списка литературы. Работа иллюстрирована 27 рисунками и 72 таблицами. Библиографический указатель включает 156 источников, из них 67 отечественных, 89 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе освещены актуальные аспекты создания смещённых агонистов КОР. Рассмотрены строение, функции, лиганды КОР и их применение. Особое внимание уделено поиску смещённых агонистов КОР, в том числе среди производных бензимидазола (N9-замещенных имидазо[1,2-а]бензимидазола), и их фармакологическим свойствам.

Во второй главе изложены материалы и методы исследования. Объектами изучения являлись твёрдые лекарственные формы соединения РУ-1205 (представляет собой дигидрохлорид 2-(4-фторфенил)-9-морфолиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазола) – АФС и гранулят таблеток (ГТ). Описаны реактивы и приборы, использованные для воспроизведения выбранных методик, а также нормативные документы для проведения исследований, содержания животных и указаны питомники, из которых доставлялись экспериментальные животные. В исследовании были использованы 400 беспородных белых мышей (320 самцов и 80 самок); 856 белых беспородных крыс (382 самца и 471 самка); кролики породы шиншилла (40 самцов и 40 самок). Изучение анальгетических свойств и взаимодействия с адъювантными препаратами оценивали в тесте отдергивая хвоста от теплового излучения и в тесте «горячая пластина» (UgoBasile, Италия). Аверсивный потенциал – в установке предпочтения/избегания места (Conditioned Place Preference Cages for Mice, UgoBasile, Италия). При проведении исследования параметров хронической токсичности использовали: гематологический анализатор (Diatron Messtechnik GmbH, Австрия); тест-системы Био-Ла Тест (Чехия, Лахема диагностика); электрокардиограф ЭКЗТ-02 (Аксион, Россия); колориметр КФК-2 (АООТ «Загорский оптико-механический завод», Россия). Для проведения теста ДНК-комет применяли

комплекс оборудования (электрофоретическую камеру, микроскоп и цифровой фотоаппарат) для последующего подсчета процента ДНК в хвостах комет.

В третьей главе рассмотрены фармакологические свойства твёрдых лекарственных форм соединения РУ-1205. Для АФС и ГТ соединения РУ-1205 показана выраженная обезболивающая активность в различных тестах. Так, на модели соматогенной боли – отдергивания хвоста от теплового излучения (tail flick test) – зафиксированные анальгетические эффекты изучаемого соединения через 60 минут после введения по силе равны морфину [увеличение латентного периода (ЛП) отдергивания хвоста на 43,8 % ($p < 0,05$) и на 45,5 % ($p < 0,05$) в группе морфина] (Рисунок 1).

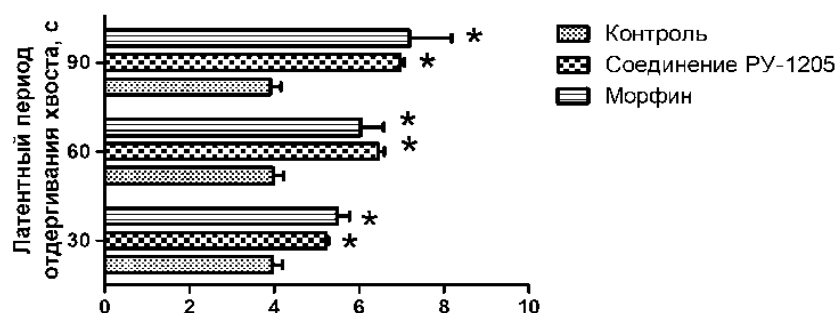


Рисунок 1. Влияния АФС РУ-1205 (5 мг/кг) и морфина гидрохлорида (1 мг/кг) при внутривенном введении мышам-самцам на величину латентного периода отдергивания хвоста от теплового излучения (tail flick test). Условные обозначения: *статистически значимые отличия от группы контроля, 2way ANOVA; посттест Бонферрони ($p < 0,05$)

При введении ГТ РУ-1205 мышам-самцам продолжительность ЛП отдергивания хвоста статистически значимо увеличивалась относительно группы контроля во всех исследуемых временных точках (Рисунок 2). Через 90 минут ЛП ГТ РУ-1205 превосходил обезболивающий эффект препарата сравнения – тримеперидина (20,2 %, $p < 0,05$), в остальных временных точках анальгетический эффект изучаемых препаратов не различался.

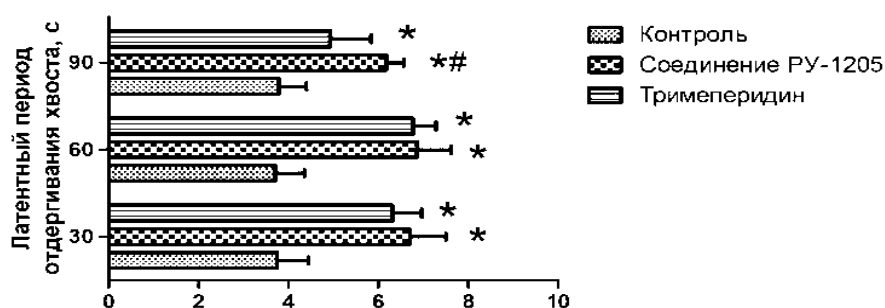


Рисунок 2. Влияние ГТ РУ-1205 (5 мг/кг в пересчете на АФС) и тримеперидина (1 мг/кг) при пероральном введении мышам на величину латентного периода отдергивания хвоста от теплового излучения. Условные обозначения: * статистически значимые отличия от группы контроля; # статистически значимые отличия от группы препарата сравнения – тримеперидина, 2way ANOVA, посттест Бонферрони ($p \leq 0,05$)

В тесте «горячая пластина» отмечены схожие обезболивающие эффекты с препаратом сравнения – буторфанолом. При этом после введении блокатора КОР – налоксона (10 мг/кг) латентный период полилизывания задней лапы у мышей уменьшался в 6,3 раза в группе изучаемого соединения ($p < 0,05$) и в 4,1 раза в группе препарата сравнения ($p < 0,05$). В другой серии экспериментов для подтверждения селективности АФС РУ-1205 (5 мг/кг) в отношении КОР в качестве селективного каппа-антагониста вводили норбиналтофимин (nor-BNI) (10 мг/кг), а в качестве препарата сравнения – агонист КОР соединение U-50,488 (5 мг/кг). При предварительном введении nor-BNI, у мышей самцов из группы АФС РУ-1205 обезболивающий эффект снижался в 5,1 раза ($p < 0,05$), в то время как в группе животных, получавших соединение U-50,488, – в 2,6 раза ($p < 0,05$).

В четвёртой главе проанализировано взаимодействие с некоторыми группами адъювантных препаратов. Для снижения дозы и частоты развития побочных эффектов опиоидные анальгетики комбинируют в том числе с адъювантными препаратами (Crush J., Levy N., 2022).

По результатам исследований установлено значительное увеличение анальгетической активности соединения АФС РУ-1205 (5 мг/кг) при его комбинировании с клонидином (1 мг/кг). Также было обнаружено незначительное увеличение обезболивающей активности изучаемого вещества при сочетании с мидазоламом (0,3 мг/кг), хотя при совместном введении АФС РУ-1205 с диазепамом наблюдалось снижение (1 мг/кг).

Комбинация клонидина с опиоидами может свести к минимуму побочные эффекты каждой из применяемых групп (Paesch M.J., 2004), однако молекулярные механизмы, лежащие в основе этих взаимодействий, не ясны. В зависимости от используемых агонистов анальгетический синергизм может быть опосредован подтипами $\alpha 2$ -адренергических рецепторов (AR) и μ - или δ -опиоидных рецепторов. Данные иммуногистохимических исследований показывают, что ОР коэкспрессируются в той же популяции сенсорных нейронов, что и $\alpha 2$ AR, и что для антиноцицептивной синергии требуется активация кальциевых каналов и протеинкиназы C (Stone L.S. et al., 2007). Физическая связь между ОР и AR объясняет наблюдаемые синергетические эффекты, так как при коэкспрессии GPCRs образуются гетеромерные комплексы, которые имеют измененные функциональные и лигандсвязывающие свойства. Такие взаимодействия могут происходить на разных уровнях ЦНС, включая первичные афферентные нейроны, спинной мозг и другие участки, такие как голубое пятно, а также на периферических участках нервной системы (Milligan G., 2009).

Мидазолам усиливал обезболивающую активность АФС РУ-1205 в 1,8 раза через 30 минут после введения, в то время как диазепам не изменял её. Можно предположить, что различия между производными бензодиазепаина (диазепам и мидазолам) при влиянии на выраженность опиоидной анальгезии могут быть связаны с особенностями их фармакокинетики (Olkola K.T. et al., 2008). Метаболизм мидазолама протекает с участием ферментов, относящихся к семейству глюкокуронозил-трансфераз (UGT, T1/2 от 1,7 до 2,6 часа) (Ofoegbu A.B., Ettienne E., 2021). Диазепам обезвреживается в печени при участии системы цитохромов (CYP3A и CYP2C19, T1/2 от 20 до 50 часов) (Olkola

K.T. et al., 2008; Dean L., 2018). Как упоминалось выше, соединение РУ-1205 метаболизируется с помощью цитохромов СYP3A (Ращенко А.И., Спасов А.А., 2014; Spasov A.A., Smirnova L.A. et al., 2021).

В ходе проведенных исследований на модели соматогенной боли для АФС РУ-1205 показано уменьшение выраженности анальгетического эффекта в группах, где изучаемое вещество вводили совместно с блокатором Na^+ каналов – карбамазепином; М-холиноблокатором – атропином; ингибитором обратного захвата моноаминов – амитриптилином.

Карбамазепин (15 мг/кг) при совместном введении с морфином статистически значимо увеличивал максимально возможный эффект (МВЭ) на 14,9 и 14,4 % через 30 и 60 минут относительно группы опиоида, что согласуется с данными литературы (Naseri K., Sabetkasaei M., 2012). При одновременном применении с каппа-агонистом карбамазепин значительно уменьшал МВЭ относительно показателей группы, получавшей АФС РУ-1205, до 2,98; 3,07 и 7,98 % в каждой из временных точек.

По предположению Tomić M. и Pecikoza U. (2018) обезболивающее действие карбамазепина опосредовано за счет потенциал-зависимых натриевых каналов на пути от восходящих периферических нейронов в ЦНС, но нельзя полностью исключать возможный вклад адренергических и ГАМКергических механизмов. По результатам экспериментов с морфином наблюдался синергизм обезболивающего действия при совместном приеме с карбамазепином (Tomić M., Pecikoza U., Micov A., 2018).

Карбамазепин является индуктором системы цитохрома P450 (CYP3A4, CYP2C8, CYP3A5, CYP2B6) (Spina E., Pisani F., 1996), что приводит к уменьшению периода полувыведения веществ, метаболизирующихся при участии данных ферментов. Исследования фармакокинетики подтверждают участие CYP3A4 и CYP2C в метаболизме АФС РУ-1205, в отличие от морфина, который в большей степени биотрансформируется при участии ферментов семейства глюкуронилтрансфераз (UGT2B7) (Ращенко А.И., Спасов А.А., 2014). Можно предположить, что уменьшение выраженности обезболивающего действия изучаемого агониста КОР АФС РУ-1205 при совместном применении с карбамазепином связано со схожими путями биотрансформации.

При одновременном введении атропина (2,7 мг/кг) и морфина отмечалось снижение анальгетического эффекта морфина, начиная с 60-й минуты. Атропин достоверно снижал МВЭ через 90 минут на 11,2 % относительно группы морфина ($p < 0,05$). Установлено, что атропин значительно снижал анальгетический эффект соединения РУ-1205 через 60 и 90 минут при их совместном введении до контрольных значений.

Из данных Duttaroy A. и Gomeza J. известно, что роль спинномозговых мускариновых рецепторов в обезболивании опиоидами подтверждается тем, что интратекальное введение атропина в значительной степени ослабляет действие опиоидов, вводимых внутривенно (Duttaroy A., Gomeza J., 2000). Предполагается, что после этого происходит быстрое образование оксида азота в дорсальном роге спинного мозга, который полностью блокируется атропином (Shao-Rui Chen, Hui-Lin Pan, 2001). Ингибиторы нейрональной синтазы оксида азота 1 при введении непосредственно в спинномозговой канал устраняют обезболивающее действие морфина, вводимого

внутривенно, что указывает на то, что оксид азота в спинном мозге необходим для обезболивающего действия системного морфина (т. е. морфин $\rightarrow$ М2-, М4 - холинэргические рецепторы $\rightarrow$ оксид азота $\rightarrow$ анальгезия). При комбинировании атропина и АФС РУ-1205 зафиксировано снижение анальгетической активности данного агониста КОР.

При комбинировании с морфином амитриптилин (3 мг/кг) значительно снижал анальгетический эффект опиоида через 30 минут (сопоставимо со значениями группы контроля, $p < 0,05$) (МВЭ = 2,72 %), затем наблюдалось незначительное увеличение ЛП, но ниже значений группы, получавшей только морфин ($p < 0,05$). Амитриптилин при совместном применении с соединением РУ-1205 достоверно снижал МВЭ (%) относительно группы каппа-агониста через 30 минут в 2 раза, а через 60 и 90 минут в 2,7 и 2,3 раза соответственно.

Снижение анальгетических свойств опиоидов при одновременном применении с амитриптилином может быть связано с неоднородностью эффектов от совместного применения морфина и амитриптилина в зависимости от дозы антидепрессанта (Akbari E., Mirzaei E., 2018). А также, несмотря на данные об эффективности совместного введения амитриптилина и опиоидов при нейропатической боли (Jagla G., Mika J., 2014), применение ингибиторов обратного захвата серотонина на моделях соматической боли может быть недостаточно эффективным (Loram L.C., Mitchell D., 2007).

Галоперидол (0,45 мг/кг) может ингибировать Ca^{2+} кальмодулин-зависимую протеинкиназу II (CaMKII α) (Brüggemann I. et al. 2000). Это приводит к снижению толерантности, вызванной неселективными агонистами ОР, и физической зависимости от их длительного приема. Считается, что CaMKII вызывает десенсibilизацию μ -ОР и КОР в клетках, нейронах ганглиев дорсальных корешков и поверхностных пластинках дорсального рога спинного мозга (Garzón J., 2008). Моделирование опиоид-опосредованной анальгезии предположительно возникает из-за антагонизма галоперидола в отношении ОР.

При совместном введении галоперидола и АФС РУ-1205 наблюдаемый эффект снижения анальгетической активности, вероятно, связан с особенностями фармакокинетики изучаемых вещества. Известно, что АФС РУ-1205 метаболизируется с помощью СYP3A семейства цитохромов (Ращенко А.И., Спасов А.А., 2014), согласно литературным данным (Ragia G. et al., 2016) галоперидол обезвреживается аналогичным образом. Образующийся в ходе окислительного N-деалкилирования метаболит галоперидола является неактивным, в отличие от предположительно анальгетически активных метаболитов АФС РУ-1205, которые образуются в результате гидроксилирования (Spasov A.A., Smirnova L.A. et al., 2021).

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено, что клонидин и мидазолам усиливали анальгетический эффект АФС РУ-1205 при совместном применении, в то время как карбамазепин, атропин и амитриптилин в разной степени снижали показатели обезболивающего эффекта изучаемого соединения. При этом габапентин, галоперидол, метоклопрамид и диазепам не изменяли его.

Полученные данные позволяют более четко сформулировать представления о локализации и механизме действия каппа-агониста опиоидных рецепторов АФС РУ-1205. Отмечено возможное фармакокинетическое взаимодействие с диазепамом, карбамазепином и галоперидолом. С помощью выявленных закономерностей возможно более детальное планирование схем назначения при совместной терапии болевого синдрома.

В пятой главе был оценен аверсивный потенциал АФС РУ-1205. Хотя агонисты КОР проявляют менее выраженный наркотический потенциал по сравнению с традиционными опиоидами, но применение μ -КОР все-таки может провоцировать психотропные побочные эффекты: дисфорию, ангедонию и галлюцинации. В течение последних лет достижения иммуногистохимии и нейрофармакологии позволили определить предполагаемый молекулярно-биологический механизм формирования дисфории и аверсии, индуцируемой каппа-рецепторными агонистами, который состоит в активации митоген-активируемой протеинкиназы – p38MAPK в вентральной тегментальной области (Schattauer S.S., Kuhar J.R., 2017). По данным литературы, блокирование p38 MAPK-киназы селективным ингибитором (соединением SB203580) уменьшает проявления дисфории при совместном применении с высокоселективными каппа-агонистами и не оказывает влияния на выраженность анальгезии (Zan G.Y., Wang Q., 2016, Margolis E.B., Karkhanis A.N., 2019). На сегодняшний день существуют μ -КОР, оказывающие выраженное обезболивающее действие, не вызывая при этом дисфории (Ehrich J.M., Messinger D.I., 2015, Gross J.D., Kaski S.W., 2019). Они сочетают свойства селективных каппа-агонистов и ингибиторов p38 MAPK либо относятся к «функционально селективным» каппа-рецепторным лигандам.

Термин «функциональная селективность», или «предвзятый агонизм», описывает способность лиганда G-белок-связанного рецептора селективно активировать подмножество сигнальных каскадов в конкретном GPCR, в отличие от активации всех нижестоящих сигнальных каскадов (например, G-белков, аррестина и/или киназы) (Schattauer S.S., Kuhar J.R., 2017). Было выдвинуто предположение, что активация p38 MAPK обеспечивается передачей сигналов β -аррестина-2, что позволяет рассматривать терапевтический потенциал лигандов КОР, смещенных на G-белок, в качестве анальгетиков без дисфорических побочных эффектов (Gross J.D., Kaski S.W., 2019).

Принимая во внимание тот факт, что ингибиторы p38 MAPK относятся к производным имидазольных систем (Abraham A.D., Fontaine H.M., 2018), добавление фторфенильного радикала в молекулу способствовало появлению новых агонистов КОР. При этом у них сохранялся антагонизм в отношении p38 MAPK.

Предварительный анализ *in silico* позволяет предположить, что соединение РУ-1205 проявляет как агонистическую активность по отношению к КОР, так и свойства ингибитора p38 MAPK. В результате докинг-анализа получены данные, позволяющие предполагать, что энергия взаимодействия между РУ-1205 и каталитическим доменом p38-MAPK достаточно высока и сходна с энергией взаимодействия референтного препарата SB203580 (Spasov A.A., Zvartau E.E. et al., 2020). Фармакологическая активация КОР у людей вызывает дисфорию и тревожность, подобные тем, которые могут быть зафиксированы в экспериментах на животных (Faouzi A., Varga B.R., 2020).

Согласно результатам проведенных экспериментов для АФС РУ-1205 не характерно аверсивное действие (Spasov A.A., Zvartau E.E. et al., 2020). Активная фармацевтическая субстанция РУ-1205 не провоцировала избегание места в тесте УРИМ в отличие от препарата сравнения – соединения U-50,488 (селективный КОА). При совместном введении высокоселективного ингибитора p38-МАР-киназы SB203580 и каппа-агониста U-50,488 на этапе обуславливания у животных не формировалось реакции избегания места, ассоциированного с введением веществ. Аналогичные данные получены в группе, одновременно получавшей АФС РУ-1205 и U-50,488.

В шестой главе определены параметры общетоксических свойств твёрдых лекарственных форм РУ-1205. Для соединения РУ-1205 в виде активной фармацевтической субстанции и форме ГТ в экспериментах на мышах и крысах обоего пола рассчитаны показатели острой токсичности. В опытах на мышах ЛД₅₀ АФС РУ-1205 для самцов составила 1898,96 мг/кг, для самок 1565,05 мг/кг; на крысах для самцов 1534,25 мг/кг, для самок – 1583,45 мг/кг. Рассчитанные параметры позволяют отнести соединение РУ-1205 в виде активной фармацевтической субстанции к классу малотоксичных веществ, а также по степени воздействия на организм причислить его к 3-му классу (умеренно опасному) (ГОСТ 12.1.007-76).

Для ГТ РУ-205 не удалось рассчитать значение некоторых параметров острой токсичности, так как гибель животных не превышала 40 % в группе животных, которым агонист КОР вводили в максимальной дозе 20 000 мг/кг (1 000 мг/кг АФС). Гранулят таблеток РУ-1205, как и АФС, относится к классу малотоксичных веществ, по степени воздействия на организм – к 3-му классу (умеренно опасному).

Токсическое действие АФС РУ-1205 проявляется в угнетении ЦНС, что проявляется отсутствием реакции на звуковые и тактильные раздражители. После однократного внутрижелудочного введения данного соединения животным (мышам и крысам) не наблюдалось симптомов интоксикации опиоидами (кататонической ригидности хвоста – реакции Штрауба, судорог, тремора, птоза, прыжков).

Токсикологические свойства. Хроническая токсичность. В хронических экспериментах исследовалось влияние соединения РУ-1205 в виде АФС при ежедневном длительном (3 месяца) пероральном введении крысам обоего пола в дозах 5 мг/кг [соответствует экспериментальной терапевтической дозе (ТД)]; 50 мг/кг (10×ТД) и 500 мг/кг (100×ТД) на органы и их функции.

Установлено отсутствие влияния субстанции АФС РУ-1205 в дозе 5 мг/кг на общее состояние животных, прирост массы тела, пищевую и питьевую активность, двигательное и эмоциональное поведение (поведенческая активность), гематологические и биохимические показатели периферической крови, электрофизиологические параметры активности сердца, функциональное состояние печени и почек.

Прирост массы тела животных, получавших АФС РУ-1205 в форме субстанции в дозе 50 мг/кг, достоверно не различался с показателями группы контроля. Среди животных, которым вводили изучаемое соединение в дозе 500 мг/кг (100×ТД), данный показатель был достоверно ниже, чем в контрольной группе. Отмеченные изменения нивелировались через один месяц после отмены изучаемого соединения.

У животных из опытных групп, получавших АФС РУ-1205 в дозе 50 мг/кг, не было выявлено выраженных изменений в общем состоянии. У этих крыс не отмечалось существенных изменений в пищевой и питьевой активности. Также у них не изменялись гематологические и биохимические показатели периферической крови, ЭКГ. У животных данной группы существенно не изменялись функциональные параметры печени и почек.

В рамках настоящего исследования при длительном (в течение 3 месяцев) введении каппа-агониста РУ-1205 в виде АФС крысам обоего пола отмечены колебания числа лимфоцитов и лейкоцитов в границах физиологических норм во всех исследуемых группах. О влиянии изучаемого соединения на состояние иммунной системы судили по показателям лейкоцитарной формулы. Отмечалось снижение общего количества лейкоцитов во всех опытных группах, а также количества палочкоядерных гранулоцитов как у самцов, так и у самок в дозе 500 мг/кг на 43,5 % ($p < 0,05$) и на 35,0 % ($p > 0,05$) соответственно. Одновременно с этим в 2 раза увеличивалось количество моноцитов в группе самцов ($p < 0,05$) и на 43,5 % в группе самок.

На основании проведенного *патоморфологического анализа* состояния внутренних органов можно сделано заключение об отсутствии патологического влияния на организм соединения РУ-1205 в виде АФС в дозах 5 и 50 мг/кг при ежедневном длительном (3 месяца) пероральном введении крысам обоего пола и через один месяц после его отмены.

У крыс, получавших АФС РУ-1205 в максимально изученной дозе 500 мг/кг, ухудшалось состояние шерстного (становилось неопрятным, тусклым с желтоватым оттенком) и кожного покровов (становилось бледным). Прирост массы тела был положительным, но достоверно ниже относительно контрольных значений. Пищевая и питьевая активность снижены. В поведенческой активности данных животных отмечено обратимое мягкое депримирующее влияние на исследуемые параметры. В данной группе животных через один месяц после отмены введения изучаемого соединения отмечено восстановление вышеописанных параметров до уровня группы контроля. Все фиксируемые изменения гематологических показателей периферической крови, такие как снижение уровня эритроцитов и гемоглобина, изменение числа лейкоцитов, не выходили за рамки физиологической нормы. По результатам биохимических исследований отмечено повышение концентрации глюкозы и холестерина в рамках физиологических норм, без изменений активности трансаминаз. Исследуемые параметры восстанавливались до контрольных значений после отмены введения соединения в дозе 500 мг/кг. Можно предположить, что изучаемое соединение не оказывает существенного влияния на основные виды обмена веществ даже в максимально исследуемой дозе, многократно превышающей терапевтическую.

По результатам функциональных тестов в группе животных, получавших АФС РУ-1205 в дозе 500 мг/кг отмечены следующие обратимые изменения: подавление детоксицирующей функции печени (тест «гексеналовый сон»), снижение поглотительно-выделительной функции печени (тест с красителем бромсульфалеин), а также угнетающее влияния соединения на экскреторную и реабсорбционную функции почек

(тест с красителем феноловый красный). В исследованиях же, проведенных после отмены введения АФС РУ-1205 в дозе 500 мг/кг, зафиксировано восстановление изученных параметров до уровня значений контроля.

Можно предположить наличие негативного действия АФС РУ-1205 в дозе 500 мг/кг на функцию печени, что согласуется и с результатами морфологических исследований (макроскопически – изменение формы и повышение коэффициента масс, микроскопически – зернистая дистрофия гепатоцитов с признаками пролиферации). Выявленные функциональные изменения в почках, фиксирующиеся на момент окончания введения АФС РУ-1205 в дозе 500 мг/кг, были обратимы, практически выравнивались до значений контроля после отмены введения вещества, наиболее выраженный повреждающий эффект зафиксирован среди самок данной опытной группы. Данное заключение также подтверждается и результатами морфологических исследований.

При оценке микропрепаратов тканей легких, надпочечников, селезенки, желудка, тонкого и толстого кишечника, поджелудочной железы, тимуса, семенников и яичников изучаемых животных всех трёх опытных групп различий с контролем не выявлено. При этом у животных, получавших АФС РУ-1205 в дозе 5 мг/кг, не отмечено никаких изменений в головном мозге, сердце, печени и почках. При этом у животных из опытной группы, которым изучаемое соединение вводили в дозе 50 мг/кг, незначительные изменения в вышеупомянутых органах носили обратимый характер и полностью исчезали через 1 месяц после отмены введения вещества. У животных, получавших АФС в дозе 500 мг/кг, также не зафиксировано структурных изменений в легких, тимусе, надпочечниках, органах ЖКТ, селезенки, поджелудочной железе, органах репродуктивной системы. При этом изменения в головном мозге и сердце были полностью обратимыми, в отличие от печени и почек, где через 1 месяц после отмены введения АФС РУ-1205 в дозе 500 мг/кг зафиксированы единичные дистрофические изменения, но менее выраженные по сравнению с 3-месячным введением.

В рамках данного исследования проведено изучение *хронической токсичности* ГТ РУ-1205 при 3-месячном внутрижелудочном введении кроликам, а также через 1 месяц после его отмены. Половозрелым животным обоего пола ежедневно длительно (3 месяца) перорально вводили водную взвесь ГТ РУ-1205 в дозах: 5 мг/кг (АФС, экспериментально доказанная терапевтическая доза, ТД), 50 мг/кг (АФС, 10×ТД) и 500 мг/кг (АФС, 100×ТД). В хроническом эксперименте следили за общим состоянием животных и их поведением. Проводили гематологические, биохимические и патоморфологические исследования.

У кроликов, получавших ГТ РУ-1205 в дозе 5 мг/кг, не установлено влияния на общее состояние и поведение, прирост массы, гематологические и биохимические показатели крови, а также на массу внутренних органов, их строение и цитоархитектонику.

В проведенных исследованиях ни в одной из опытных групп не зафиксировано выраженного негативного влияния ГТ РУ-1205 на дыхание и электрофизиологическую активность сердца.

Общее состояние кроликов, получавших ГТ РУ-1205 в дозе 50 мг/кг, значительно не отличалось от животных контрольной группы, при этом в поведении у кроликов этой опытной группы было зафиксировано снижение подвижности, без изменений реактивности. По результатам гематологических и биохимических исследований не установлено повреждающего влияния ГТ РУ-1205 на показатели периферической крови кроликов.

При патоморфологической оценке внутренних органов кроликов данной группы зафиксировано увеличение размеров печени, без достоверного увеличения коэффициента массы органа, а также незначительные изменения строения, которые нивелировались после отмены изучаемого соединения. При макро- и микроскопической оценке других изучаемых органов не зафиксировано каких-либо значимых изменений.

У кроликов, получавших ГТ РУ-1205 в дозе 500 мг/кг, прослеживалось обратимое снижение прироста массы тела, ухудшение состояния шерстного покрова, повышение подвижности и эмоциональности. При исследовании гематологических параметров не отмечалось изменений в показателях красной крови, тогда как в белой крови кроликов-самцов зафиксировано снижение относительно контрольных значений числа лейкоцитов на треть ($p < 0,05$) [при этом количество сегментоядерных гранулоцитов увеличилось на 59,9% ($p < 0,01$)] и лимфоцитов на 15 % ($p < 0,05$). У кроликов-самок этой опытной группы, напротив, повышалось количество лейкоцитов на 64,2 % ($p < 0,05$) относительно группы контроля, а количество лимфоцитов повышалось в среднем на 18 %. В исследованиях, проведенных через 1 месяц после отмены введения вещества РУ-1205, каких-либо изменений в показателях периферической крови кроликов не зарегистрировано. Среди изученных биохимических показателей зафиксировано обратимое повышение уровня глюкозы и холестерина. При этом выявленные сдвиги не выходили за рамки контрольных значений и не фиксировались после отмены введения изучаемого вещества. Данное заключение согласуется с результатами патоморфологических исследований.

На основании гистологического анализа внутренних органов животных, получавших ГТ РУ-1205 в течение 3 месяцев в дозе 500 мг/кг, можно предположить наличие наиболее отчетливого обратимого действия вещества на органы детоксикации (легкие, печень, почки), которые являются наиболее чувствительными к действию испытуемого вещества. При этом в группе животных, получавших ГТ РУ-1205 в дозе 5 мг/кг изменений не зафиксировано ни в одном из изученных органов, в то время как в группе кроликов, которым вводили изучаемое вещество в дозе 50 мг/кг, незначительные обратимые изменения были установлены в печени, легких и почках.

В седьмой главе изучена репродуктивная токсичность АФС РУ-1205.

Влияние на генеративную функцию. В рамках данного исследования оценивали влияние соединения РУ-1205 в виде АФС на репродуктивную функцию крыс. Изучаемое соединение вводили перорально половозрелым животным: самцам (2 месяца), самкам (15 дней) в дозах 5 мг/кг (ТД) и 500 мг/кг (100×ТД).

Отрицательного влияния изучаемого соединения на половое поведение животных не зафиксировано. В группе крыс-самцов, получавших АФС РУ-1205 в дозе 5 мг/кг,

установлена тенденция активации полового поведения, в то время как среди крыс-самцов, получавших изучаемое соединение в дозе 500 мг/кг, – незначительное снижение (исходя из параметров рецептивного/спаривательного поведения).

При курсовом введении АФС РУ-1205 в дозах 5 и 500 мг/кг не зафиксировано негативного влияния на функции сперматозоидов и процессы сперматогенеза. При этом данное вещество мягко активировало фертильность самцов, оказывало положительное влияние на функцию эпителиосперматогенного слоя без патологического воздействия на функциональное состояние канальцев.

На основании проведенных исследований можно заключить, что АФС РУ-1205 в дозах 5 и 500 мг/кг не оказывает негативного влияния на половую мотивационную активность, фертильность и на овуляторную цикличность крыс-самок и способствует тенденции положительного влияния на качество зачатия: снижает эмбриональную гибель плодов, повышает плодовитость у самок.

Репродуктивная токсичность. Исследование эмбрио- и фетотоксического действия АФС РУ-1205, регистрируемое в антенатальном и постнатальном периодах развития крыс, проводили в два этапа.

По результатам первого этапа (исследование антенатальной токсичности) можно заключить, что АФС РУ-1205 в дозах 5, 50 и 500 мг/кг при пероральном введении беременным крысам не проявляет эмбрио- и фетотоксических свойств. Так, не установлено изменений в общем состоянии выделенных плодов и их антенатальном развитии (оценивались масса тела, наличие уродств, внешневидимые изменения: краниокаудальные размеры, процессы оссификации скелета).

По результатам второго этапа исследований можно предположить, что АФС РУ-1205 в дозе 500 мг/кг при хроническом (с 6-го по 20-й дни беременности) пероральном введении крысам-самкам не оказывает эмбриотоксического действия, которое регистрируется в постнатальном периоде развития потомства. При этом в особенностях скорости физического и полового развития, а также поведенческих и мнестических реакций у крысят из опытной группы обнаружено опережение по нескольким показателям (открытие глаз, опущение семенников в мошонку и т. д.) относительно группы контроля.

Влияние на геном крыс АФС РУ-1205 изложено в восьмой главе. Для изучения генотоксических свойств АФС РУ-1205 использовали метод щелочного гель-электрофореза отдельных клеток (тест ДНК-комет). Изучаемое соединение вводили самцам и самкам крыс внутрижелудочно в дозах 5, 50 и 500 мг/кг. Критерием генотоксичности служило статистически значимое повышение процентного содержания ДНК в хвосте кометы (% ДНК в хвостах комет) по сравнению с контролем при значении индекса повреждения выше 2,0. В рамках исследования генотоксических свойств соединения, исходя из результатов фармакокинетических исследований, учитывали %ДНК в микропрепаратах крови, печени, почек, костного мозга, головного мозга, желудка.

В результате проведенных исследований не было установлено влияния АФС РУ-1205 при однократном внутрижелудочном введении на геном крыс (Таблица 1). Это

подтверждается отсутствием статистически значимого дозозависимого увеличения показателя повреждения %ДНК в хвостах комет для всех экспериментальных точек на препаратах анализируемых органов и низким уровнем индекса повреждения в максимальной дозе 500 мг/кг.

Таблица 1 – Влияние АФС РУ-1205 (интрагастрально, однократно) на % ДНК в хвостах комет исследуемых органов крыс

№ п/п	Орган	%ДНК в хвостах комет								
		ММС 40 мг/кг, в/б	Самцы				Самки			
			контроль, вода очищенная	РУ-1205, 5 мг/кг	РУ-1205, 50 мг/кг	РУ-1205, 500 мг/кг	контроль, вода очищенная	РУ-1205, 5 мг/кг	РУ-1205, 50 мг/кг	РУ-1205, 500 мг/кг
1	Печень	↑↑	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Головной мозг	↑↑	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Костный мозг	↑	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Кровь	↑	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Желудок	—	↑	↑	↑	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑

Примечание: 0 – %ДНК в хвостах комет < 10%; ↑ – %ДНК = 10%; ↑↑ – %ДНК = 20 %; ММС – метилметансульфонат.

В девятой главе приведено обсуждение результатов настоящего исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках данного исследования были изучены фармакологические и токсикологические свойства каппа-опиоидного агониста, производного имидазобензимидазола, соединения РУ-1205 в твердой лекарственной форме (в виде активной АФС и в форме ГТ). Анальгетическая активность изучаемого соединения в дозе 5 мг/кг на модели соматогенной боли *in vivo* сопоставима с опиоидами (морфин, тримеперидин, каппа-агонист буторфанол).

Используя модель отдергивания хвоста от теплового излучения, был установлен характер взаимодействия АФС РУ-1205 (5 мг/кг) с различными адъювантными препаратами. Так, клонидин (1 мг/кг) и мидазолам (0,3 мг/кг) при совместном внутрибрюшинном введении с изучаемым соединением увеличивают его максимально возможный анальгетический эффект. В свою очередь, атропин (2,7 мг/кг), amitriptilin (3 мг/кг) и карбамазепин (15 мг/кг) при совместном внутрибрюшинном введении мышам с АФС РУ-1205 ослабляют, а габапентин (90 мг/кг), галоперидол (0,45 мг/кг), метоклопрамид (5 мг/кг) и диазепам (1 мг/кг) не изменяют максимально возможный анальгетический эффект.

У АФС РУ-1205 в дозе 5 мг/кг не выявлено аверсивных свойств в тесте УРИМ, характерных для других каппа-опиоидных агонистов (U-50,488, 10 мг/кг), при этом,

подобно ингибитору p38-МАРК-киназы SB203580 (0,05 мг/кг), изучаемое соединение препятствует формированию реакции избегания места.

Исследуемое соединение – РУ-1205 в твердой лекарственной форме относится к классу малоопасных, что также подтверждается результатами хронических экспериментов по изучению общетоксических свойств и параметров специфической токсичности. Соединение РУ-1205 в форме АФС и в виде ГТ вводили животным (крысам и кроликам) ежедневно внутрижелудочно в течение 3 месяцев для оценки общетоксических свойств. Обратимые структурные изменения зафиксированы на микропрепаратах органов животных из группы, получавшей изучаемое соединение в максимальной исследуемой дозе 500 мг/кг.

При оценке параметров специфической токсичности не прослеживалось влияния АФС РУ-1205 на генеративную функцию крыс, а также не отмечено эмбрио- и фетотоксического действия изучаемого соединения, регистрируемого в антенатальном и постнатальном периодах развития. При исследовании генотоксических свойств методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток (тест ДНК-комет) не выявлено увеличения показателя повреждения % ДНК в хвостах комет в группах животных, получавших АФС РУ-1205 в максимальной дозе.

На основании полученных данных острой и хронической токсичности была спрогнозирована безопасность АФС РУ-1205 для человека при проведении клинических исследований. Так, согласно алгоритму для определения МРНД для бессимптомных добровольцев среди людей необходимым является установление: дозы без наблюдаемого отрицательного эффекта (ДБНОЭ), эквивалентной дозы для человека (ЭДЧ), коэффициента пересчета на площадь поверхности тела (КП), коэффициента безопасности (КБ), ФАД (Гуськова Т.А., 2010). Доза без наблюдаемого отрицательного эффекта для кроликов составляет 50 мг/кг. Таким образом, $ЭДЧ = ДБНОЭ \text{ (для кроликов)} / Кп \text{ (для кроликов)} = 50 \text{ мг/кг} / 3,2 = 15,6 \text{ мг/кг}$. Тот же результат получается при другом рекомендованном способе вычисления ЭДЧ – умножении дозы для кроликов на коэффициент (Кп-1) 0,32: $ЭДЧ = 50 \text{ мг/кг} \times 0,32 = 16 \text{ мг/кг}$. МРНД: $16 \text{ мг/кг} / 10 = 1,6 \text{ мг/кг}$. Для человека 80 кг: $1,6 \times 80 = 128 \text{ мг}$. Фармакологически активная доза, т. е. наименьшая доза, исследованная на крысах в тесте tail-flick, составляет ЭД5 0,5 мг/кг (Штарева Д., 2014), которая обладает анальгетической активностью, для человека составила приблизительно 10 мг.

С учетом низкой токсичности исследуемого препарата и, соответственно, высокой дозы МРНД представляется целесообразным исследовать безопасность, переносимость и фармакокинетические параметры в ФАД соединения РУ-1205 (10 мг) и при 5-кратном увеличении ФАД (50 мг) в качестве МРНД при однократном пероральном приеме, и ФАД соединения РУ-1205 (10 мг) при многократном приеме (2 раза в сутки с интервалом 8 часов).

ВЫВОДЫ

1. Соединение РУ-1205 в виде активной фармацевтической субстанции и гранулята таблеток при однократном введении мышам внутривентрально и внутрь в дозе

5 мг/кг проявляет анальгетический эффект, равный препаратам сравнения – морфину, тримеперидину, буторфанолу на модели отдергивания хвоста от теплового излучения (tail flick).

2. Селективный антагонист каппа-опиоидных рецепторов – норбиналторфимин при предварительном внутрибрюшинном введении мышам в дозе 10 мг/кг в тесте «горячая пластина» статистически значимо снижает анальгетический эффект АФС РУ-1205 (5 мг/кг) в 5,1 раза.

3. Клонидин в дозе 1 мг/кг при совместном внутрибрюшинном введении мышам с активной фармацевтической субстанцией РУ-1205 (5 мг/кг) на модели отдергивания хвоста статистически значимо увеличивает максимально возможный анальгетический эффект (МВЭ, %) опиоида в среднем на 50 %; мидазолам, вводимый аналогичным образом в дозе 0,3 мг/кг, усиливает обезболивающую активность каппа-агониста через 30 минут в 1,8 раза.

4. Атропин (2,7 мг/кг), амитриптилин (3 мг/кг) и карбамазепин (15 мг/кг) при совместном внутрибрюшинном введении мышам с соединением РУ-1205 в виде АФС (5 мг/кг) на модели отдергивания хвоста статистически значимо ослабляют МВЭ (%) каппа-агониста в 0,4; 2,0 и 0,4 раза соответственно. Габапентин (90 мг/кг), галоперидол (0,45 мг/кг), метоклопрамид (5 мг/кг) и диазепам (1 мг/кг) при внутрибрюшинном введении мышам совместно с соединением РУ-1205 в виде активной фармацевтической субстанции не изменяют его анальгетическую активность.

5. Активная фармацевтическая субстанция РУ-1205 при многократном внутрибрюшинном введении мышам в дозе 5 мг/кг в тесте условной реакции избегания места (УРИМ) не изменяет длительность нахождения животного в камере, ассоциированной с введением вещества, в отличие от препарата сравнения каппа-агониста U-50488 (10 мг/кг). В группах животных, которым предварительно (до U-50488) внутрибрюшинно вводили ингибитор p38 MAPK-киназы SB203580 в дозе 0,05 мг/кг или АФС РУ-1205 (5 мг/кг), реакция избегания места не формировалась.

6. Соединение РУ-1205 при курсовом (3 месяца) пероральном введении крысам (АФС) и кроликам (ГТ) обоего пола в дозе 5 мг/кг не вызывает необратимых изменений в функциях и структуре органов. При введении изучаемого соединения в виде активной фармацевтической субстанции и гранулята таблеток в дозе 50 мг/кг зарегистрированы незначительные обратимые изменения в функции печени.

7. Соединение РУ-1205 в виде АФС и ГТ в дозе 500 мг/кг при курсовом (3 месяца) пероральном введении крысам и кроликам обоего пола приводит к патологическим изменениям строения и функций печени (в тесте «гексеналовый сон» увеличение длительности засыпания и сна, на микропрепаратах печени – кариолизис и мелкокапельная дистрофия гепатоцитов).

8. Соединение РУ-1205 в виде АФС при длительном пероральном введении крысам в различных дозах (5, 50 и 500 мг/кг) не вызывает негативного влияния на генеративные функции самок и самцов, а также не проявляет эмбрио- и фетотоксического действия.

9. Соединение РУ-1205 в виде АФС при пероральном введении крысам в дозах 5, 50 и 500 мг/кг в тесте ДНК-комет не вызывает повреждение генома.

10. Соединение РУ-1205 в виде активной фармацевтической субстанции и в виде гранулята таблеток, согласно ГОСТ 12.1.007-76, при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам относится к 3-му умеренно опасному классу.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании полученных в рамках настоящего исследования данных о фармакологических и токсикологических свойствах твёрдой лекарственной формы соединения РУ-1205 (активной фармацевтической субстанции и гранулята таблеток) целесообразным является составление регистрационного досье на потенциально новый лекарственный препарат – РУ-1205.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Семенова (Лифанова), Ю.В. Острая токсичность каппа-опиоидного агониста – соединения РУ-1205 при пероральном введении / Ю.В. Семенова (Лифанова), Н.В. Елисеева, Л.С. Мазанова [и др.]. – Текст : непосредственный // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2019. – № 2. – С. 44–47. – EDN WDDMCB.

2. Spasov, A.A. Study of aversive and p38 mapk-inhibitory properties of kappa-agonist with analgesic activity - compound RU-1205 / A.A. Spasov, E.E. Zvartau, O.Iu. Grechko, Yu.V. Semenova (Lifanova) [et al.]. – Text : electronic // Research Results in Pharmacology. – 2020. – Vol. 6, No. 3. – P. 59–65. – DOI: 10.3897/rrpharmacology.6.54558. – EDN LJPCIZ.

3. Семенова (Лифанова), Ю.В. Влияние адъювантных препаратов на выраженность анальгетической активности морфина при соматогенной боли / Ю.В. Семенова (Лифанова), Н.В. Елисеева, А.А. Спасов. – Текст : электронный // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2020. – № 4 (76). – С. 141–145. – DOI: 10.19163/1994-9480-2020-4(76)-141-145. – EDN COVEOP.

4. Spasov, A.A. Effect of adjuvant drugs on the analgesic activity of opioid morphine analgesics and compound RU-1205 / A.A. Spasov, O.Iu. Grechko, N.V. Eliseeva, Yu.V. Lifanova [et al.]. – Text : electronic // Research Results in Pharmacology. – 2021. – Vol. 7, no. 3. – P. 41–47. – DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.68025. – EDN QPJMRN.

5. Бугаева, Л.И. Оценка безопасности каппа-опиоидного анальгетика – соединения РУ-1205 / Л.И. Бугаева, С.А. Лебедева, Е.А. Кузубова, Ю.В. Лифанова [и др.]. – Текст : электронный // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 19, № 2. – С. 111–117. – DOI: 10.19163/1994-9480-2022-19-2-111-117. – EDN GCFTGW.

6. Лифанова, Ю.В. Влияние каппа-агониста опиоидных рецепторов – соединения РУ-1205 на генеративную функцию крыс-самцов / Ю.В. Лифанова, Н.В. Елисеева, А.А. Спасов [и др.]. – Текст : электронный // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 152–156. – DOI: 10.19163/1994-9480-2023-20-4-152-156.

7. Верле, О.В. Влияние нового каппа-агониста (фторфенилпроизводное имидазо[1,2-а]бензимидазола) на геном крыс / О.В. Верле, А.Г. Сиреканян, Н.В. Елисеева, Ю.В. Лифанова [и др.]. – Текст : электронный // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2023. – Т. 13, № 1. – С. 42–50. – DOI: 10.30895/1991-2919-2023-13-1-42-50. – EDN LLGGUD.

Тезисы докладов

1. Семенова (Лифанова), Ю.В. Изучение острой токсичности нового каппа-опиоидного агониста – соединения РУ-1205 / Ю.В. Семенова (Лифанова), Н.В. Елисеева, Л.С. Мазанова, О.Ю. Гречко. – Текст : непосредственный // Беликовские чтения : Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции ; Пятигорск, 04–05 декабря 2018 года. – Пятигорск : Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2019. – С. 159–165. – EDN LGZPRN.

2. Семенова (Лифанова), Ю.В. Оценка общетоксических свойств нового агониста каппа-опиоидных рецепторов соединения РУ-1205 – в твердой лекарственной форме / Ю.В. Семенова (Лифанова), Н.В. Елисеева. – Текст : непосредственный // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины : Материалы 77-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ; Волгоград, 24–27 апреля 2019 г. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2019. – С. 371. – EDN SUZSOX.

3. Семенова (Лифанова), Ю.В. Изучение аверсивного потенциала производного бензимидазола в тесте УРИМ / Ю.В. Семенова. – Текст : непосредственный // XXIV Региональная конференция молодых ученых и исследователей Волгоградской области : Материалы докладов ; Волгоград, 09 декабря 2019 г. / под общей редакцией В.И. Петрова. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2020. – С. 105–106. – EDN XZGEVF.

4. Семенова (Лифанова), Ю.В. Изучение взаимодействия производного бензимидазола с адъювантными препаратами в тесте отдергивания хвоста / Ю.В. Семенова. – Текст : непосредственный // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины : Материалы 78-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ; Волгоград, 14–16 октября 2020 года. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2020. – С. 242–243. – EDN ZXCQPX.

5. Лифанова, Ю.В. Изучение анальгетического эффекта опиоидных анальгетиков при совместном применении с агонистами бензодиазепиновых рецепторов / Ю.В. Лифанова. – Текст : непосредственный // XXV Региональная конференция молодых учёных и исследователей Волгоградской области : Материалы конференции ; Волгоград, 24 ноября 2020 года / под редакцией М.Е. Стаценко. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2021. – С. 153–155. – EDN VEVQKO.

6. Лифанова, Ю.В. Изучение генотоксических свойств каппа-опиоидного агониста методом щелочного гель-электрофореза / Ю.В. Лифанова, О.В. Верле,

А.Г. Сиреканян. – Текст : непосредственный // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины : сборник 79-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ; Волгоград, 21–23 апреля 2021 г. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2021. – С. 348–349. – EDN JMVKQW.

7. Лифанова, Ю.В. Оценка генотоксических свойств каппа-опиоидного анальгетика методом ДНК-комет / Ю.В. Лифанова, О.В. Верле, А.Г. Сиреканян. – Текст : электронный // MedChem-Russia 2021 : материалы 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием ; Волгоград, 16–19 мая 2022 года. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2021. – С. 477. – DOI: 10.19163/MedChemRussia2021-2021-477. – EDN BDIPLJ.

8. Елисеева, Н.В. Новый каппа-опиоидный анальгетик без наркотического потенциала / Н.В. Елисеева, О.Ю. Гречко, Ю.В. Лифанова [и др.]. – Текст : электронный // MedChem-Russia 2021 : материалы 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием ; Волгоград, 16–19 мая 2022 г. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2021. – С. 482. – DOI: 10.19163/MedChemRussia2021-2021-482. – EDN TAAADM.

9. Гречко, О.Ю. Смещенные опиоидные анальгетики / О.Ю. Гречко, А.А. Спасов, Н.В. Елисеева, Ю.В. Лифанова. – Текст : электронный // MedChem-Russia 2021 : материалы 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием ; Волгоград, 16–19 мая 2022 года. – Волгоград : Изд-во ВолгГМУ, 2021. – С. 85. – DOI: 10.19163/MedChemRussia2021-2021-85. – EDN VSUYKH.

10. Спасов, А.А. Смещенные опиоидные анальгетики — новый класс обезболивающих средств / А.А. Спасов, Н.В. Елисеева, Ю.В. Лифанова [и др.]. – Текст : электронный // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11S. – С. 139. – DOI: <https://doi.org/10.30906/ekf-2023-86s-139>.

Научное издание

Лифанова Юлия Викторовна

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ТВЕРДОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
НОВОГО К-ОПИОИДНОГО АГОНИСТА РУ-1205

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат диссертации на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук

Подписано в печать 19.03.2025. Формат 60×84/16.
Бумага обычная. Печать цифровая. Гарнитура Times New Roman.
Усл. печ. л. 1,0. Тираж 80 экз. Заказ № 69.

Отпечатано в Издательстве ВолгГМУ
400006, Волгоград, ул. Дзержинского, 45
Телефоны: (8442) 74-01-73, 74-02-16, 74-08-04