

Нейромодуляторы азаадамантанового типа: перспективы применения при нейродегенеративных патологиях

Сорокина И.В.*, Питухин М.П., Айдагулова С.В., Мешкова Ю.В.,
Пономарев К.Ю., Толстикова Т.Г., Суслов Е.В., Волчо К.П.

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

* sorokina@nioch.nsc.ru

Ключевые слова: азаадамантаны; нейромодуляторы; болезнь Паркинсона; рассеянный склероз

Мотивация и цель: К нейродегенеративным заболеваниям относится группа болезней с прогрессирующей гибелью и постепенной атрофией нервных клеток в определенных структурах центральной нервной системы. Одним из общих патогенетических механизмов является нарушение функционирования нейротрансмиттерных систем, изменяющее баланс тормозных и возбуждающих нейромедиаторов в нервных тканях, что на уровне целого организма проявляется в возникновении симптомов неврологического дефицита в виде двигательных, когнитивных и вегетативных расстройств. Ведущим патогенным фактором, в данном случае, можно считать повышение активности глутаматной системы и, связанного с ней феномена эксайтотоксичности, возникающего за счет усиления кальциевого тока в нейроны через каналы NMDA-рецепторов. Установлен существенный вклад данного феномена в патогенез болезней Паркинсона, Гентингтона, рассеянного склероза, сенильной деменции, и других нейродегенеративных патологий [1]. Данные факты повышают интерес к разработке современных «антиглутаматных» стратегий и поиску препаратов с нейропротекторным действием, прежде всего среди блокаторов глутаматных рецепторов. Перспективным классом соединений в этой связи являются производные адамантана, на основе которого получены три лекарственных препарата, применяемые при болезнях Альцгеймера (мемантин), Паркинсона (амантадин, гимантан) и рассеянном склерозе (амантадин).

Амантадин (мидантан) используется при лечении болезни Паркинсона (БП), а также в терапии рассеянного склероза, хореи Гентингтона, пост-COVID19 синдрома и др. Амантадин оказывает противовирусное, нейропротекторное, умеренное противовоспалительное действие, а также снижает акинезию, тремор и физическую слабость пациентов за счет модуляции нейротрансмиссии (стимуляция дофаминергических и частичная блокада холинергических нейронов) [1]. Нейропротекторное действие препарата обеспечивается частичной блокадой NMDA глутаматных рецепторов, которые играют важную роль в развитии нейровоспаления и апоптоза клеток нервной ткани [2]. Однако амантадин имеет ряд побочных эффектов, таких как сонливость, тремор, судороги, а также нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта и мочевого пузыря. Кроме того, при длительном курсовом применении амантадин вызывает привыкание.

В НИОХ СО РАН получены три полициклических азотистых аналога амантадина, содержащие атомы азота в узловых местах адамантанового каркаса: 5,7-диметил-1,3-диазаадамантан-6-он (K1-238), 6-амино-5,7-диметил-1,3-диазаадамантан (K1-282) и 7-амино-1,3,5-триазаадамантан (K1-302). Целью исследования являлась

оценка влияния агентов на симптомы дискинезии у мышей CD-1 в моделях лекарственного паркинсонизма, а также на выраженность неврологического дефицита у мышей C57Bl/6 в модели токсической купризоновой демиелинизации. *Методы:* Эксперименты проводили согласно [3] на мышах-самцах CD-1 и C57Bl/6, полученных из вивария ФИЦ ФТМ. Исследуемые соединения вводили в дозе 20 мг/кг внутривентриально, контрольной группе вводили физиологический раствор.

Модель галоперидоловой каталепсии. Исследуемые соединения вводили за 15 мин до введения блокатора D2-дофаминовых рецепторов галоперидола в дозе 1 мг/кг. Через 60, 120 и 180 мин животное устанавливали передними лапами на перекладину («поза лектора») и фиксировали продолжительность всех периодов замирания (каталепсии) в течение 2 мин. Дофаминергическую активность соединений оценивали по снижению общей продолжительности всех периодов каталепсии в группе относительно контроля.

Модель ареколинового тремора. Исследуемые агенты вводили за 30 мин до подкожного введения М-холиномиметика ареколина (в дозе 25 мг/кг). Фиксировали продолжительность тремора. Действие агентов в отношении снижения активности М-холинергической системы оценивали по уменьшению продолжительности судорожной активности.

Модель йохимбиновой токсичности. Исследуемые агенты вводили за 30 мин до внутривентриального введения раствора йохимбина, селективного $\alpha 2$ -адреноблокатора, в дозе 55 мг/кг. Эффект потенцирования адренергической передачи оценивали по суммарной продолжительности жизни всех мышей в группе и количеству павших животных в течение 30 мин после введения никотина.

Модель рассеянного склероза (купризоновой демиелинизации). Самцам мышей C57Bl/6 (кроме интактных) заменяли питьевую воду на 0,3 % раствор купризона. Исследуемые агенты вводили три раза в неделю в течение 40 дней. Оценка моторно-двигательных и поведенческих эффектов агентов в условиях токсической демиелинизации проводили посредством анализа двигательной и исследовательской активности в приборе TruScan («Coulbourn Inst.», США) по следующим показателям: общему времени движения, скорости движения, пройденной дистанции, времени в неподвижном состоянии, а также по числу и времени обследованных отверстий в полу камеры. Показатели регистрировали в течение 2 мин у каждой мыши на 40 день эксперимента.

Результаты: **Модель галоперидоловой каталепсии.** Через 60 мин после введения галоперидола значимого различия между всеми группами не наблюдалось, через 120 мин наблюдали статистически значимое снижение продолжительности каталепсии во всех исследуемых группах по отношению к контролю, а через 180 мин достоверное уменьшение продолжительности сохранялось только в группах К-238 и К-302, причем у группы К-238 также обнаружен значимый эффект по сравнению с АД. Согласно этим данным, можно сделать вывод о том, что все исследуемые агенты в условиях блокады D2-дофаминовых рецепторов галоперидолом проявили дофаминергическую активность, а агенты К-238 и К-302 сохраняли эту активность дольше чем АД. Таким образом, установлено, что азаадамантаны способны снижать акинезию и ригидность, характерную для болезни Паркинсона.

Модель ареколинового тремора. На фоне введения исследуемых веществ К-282 и К-302 было обнаружено значимое уменьшение продолжительности тремора,

вызванного ареколином по сравнению с группой АД и контролем. Данный факт свидетельствует о наличии центральной М-холиноблокирующей активности у данных агентов. Соединения К-282 и К-302 являются потенциально эффективными агентами для предупреждения тремора, вызванного гиперактивацией М-холинорецепторов хвостатого ядра, аналогичной дрожательной форме болезни Паркинсона.

Модель йохимбиновой токсичности. Йохимбин селективно блокирует α 2-адренорецепторы, тем самым вызывая увеличение поступления норадреналина в синаптическую щель и оказывая токсическое действие. Установлено, что агент К-282 уменьшает суммарную продолжительность жизни после введения йохимбина в 1,7 раз, а АД, К-238 и К-302 – в 1,2–1,4 раза по сравнению с контролем. Гибель всех животных в группе (6 из 6 животных) в течение времени наблюдения была зафиксирована в группах К-238, К-282, К-302; в группе АД погибло 83 % мышей (5 из 6), а в контрольной группе гибель наступала лишь в 69,2 % случаев (9 из 13). Таким образом, все исследуемые агенты усиливают токсическое действие йохимбина и оказывают потенцирующее действие на адренергическую систему. Сделано предположение о способности агентов блокировать действие фермента моноаминоксидазы в условиях увеличенного высвобождения норадреналина в синаптическую щель.

Модель токсической демиелинизации, вызванной купризеном. На фоне хронической интоксикации купризеном, на 40-й день опыта снижение локомоторных показателей в контрольной группе относительно интактной было статистически незначимым, однако показано, что агент К-238 достоверно превосходил интактную, контрольную и группу АД по общему времени локомоторной активности, дистанции и скорости движения. Соединение К-302 достоверно повысило общую продолжительность двигательных актов по сравнению с контролем, а также показатели дистанции и скорости движения относительно группы АД. У агента К-302 также наблюдалась достоверно более высокая исследовательская активность относительно интактной, контрольной и группы АД. Соединение К-282 не оказало достоверного эффекта на показатели локомоторной и исследовательской активности относительно контроля и АД. Таким образом, соединения К-238 и К-302 в условиях нейротоксического действия купризона оказывают стимулирующий эффект на двигательную и исследовательскую активность. Такие результаты могут быть связаны с влиянием исследуемых агентов на дофаминергическую и/или адренергическую трансмиссию в нервной системе.

Выводы: Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения нейромодуляторов азаадамантанового типа при нейродегенеративных патологиях

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке РФ, проект 23-25-00428.

Neuromodulators of the azaadamantane type: prospects for use in neurodegenerative pathologies

Sorokina I.V.*, Pitukhin M.P., Aidagulova S.V., Meshkova Yu.V., Ponomarev K.Yu., Tolstikova T.G., Suslov E.V., Volcho K.P.

N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

* sorokina@nioch.nsc.ru

Key words: azaadamantanes; neuromodulators; Parkinson's disease; multiple sclerosis

Motivation and Aim: Neurodegenerative diseases is a group of diseases with progressive death and gradual atrophy of nerve cells in certain structures of the central nervous system. One of the common pathogenetic mechanisms is disruption of the functioning of neurotransmitter systems, changing the balance of inhibitory and excitatory neurotransmitters in nerve tissues, which at the level of the whole organism manifests itself in the occurrence of symptoms of neurological deficit in the form of motor, cognitive and autonomic disorders. The leading pathogenic factor, in this case, can be considered an increase in the activity of the glutamate system and the associated phenomenon of excitotoxicity, which occurs due to increased calcium current into neurons through NMDA receptor channels. A significant contribution of this phenomenon to the pathogenesis of Parkinson's, Huntington's, multiple sclerosis, senile dementia, and other neurodegenerative pathologies has been established [1]. These facts increase interest in the development of modern "anti-glutamate" strategies and the search for drugs with a neuroprotective effect, primarily among glutamate receptor blockers. A promising class of compounds in this regard are adamantane derivatives, on the basis of which three drugs used for Alzheimer's (memantine), Parkinson's (amantadine, gimatecant) and multiple sclerosis (amantadine) diseases have been obtained.

Amantadine (midantan) is used in the treatment of Parkinson's disease (PD), as well as in the treatment of multiple sclerosis, Huntington's chorea, post-COVID19 syndrome, etc. Amantadine has antiviral, neuroprotective, moderate anti-inflammatory effects, and also reduces akinesia, tremor and physical weakness of patients by modulating neurotransmission (stimulation of dopaminergic and partial blockade of cholinergic neurons) [1]. The neuroprotective effect of the drug is ensured by partial blockade of NMDA glutamate receptors, which play an important role in the development of neuroinflammation and apoptosis of nervous tissue cells [2]. However, amantadine has a number of side effects, such as drowsiness, tremor, convulsions, as well as gastrointestinal and bladder disorders. In addition, with long-term course use, amantadine is addictive.

Three polycyclic nitrogenous analogues of amantadine containing nitrogen atoms in the nodes of the adamantane framework were obtained at the Scientific Research Institute of Organic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences: 5,7-dimethyl-1,3-diazaadamantan-6-one (K1-238), 6-amino-5,7-dimethyl-1,3-diazaadamantane (K1-282) and 7-amino-1,3,5-triazaadamantane (K1-302). The purpose of the study was to evaluate the effect of agents on symptoms of dyskinesia in CD-1 mice in models of drug-induced parkinsonism, as well as on the severity of neurological deficits in C57Bl/6 mice in a model of toxic cuprizone demyelination.

Methods: Experiments were carried out according to [3] on male CD-1 and C57Bl/6 mice obtained from the vivarium of the FRC FTM. The test compounds were administered at a dose of 20 mg/kg intraperitoneally, the control group was administered saline solution.

Model of haloperidol catalepsy. The test compounds were administered 15 min before administration of the D2-dopamine receptor blocker haloperidol at a dose of 1 mg/kg. After 60, 120 and 180 min, the animal was placed with its front paws on the crossbar ("lecturer's pose") and the duration of all periods of freezing (catalepsy) was recorded for 2 min. The dopaminergic activity of the compounds was assessed by reducing the total duration of all periods of catalepsy in the group relative to the control.

Model of arecoline tremor. The study agents were administered 30 min before subcutaneous administration of the M-cholinomimetic arecoline (dose – 25 mg/kg). The duration of tremor was recorded. The effect of the agents in reducing the activity of the M-cholinergic system was assessed by reducing the duration of convulsive activity.

Yohimbine toxicity model. The study agents were administered 30 min before intraperitoneal administration of a solution of yohimbine, a selective $\alpha 2$ -blocker, at a dose of 55 mg/kg. The effect of potentiation of adrenergic transmission was assessed by the total life expectancy of all mice in the group and the number of dead animals within 30 min after nicotine administration.

Model of multiple sclerosis (cuprizone demyelination). Male C57BL/6 mice (except intact ones) had their drinking water replaced with a 0.3 % cuprizone solution. Study agents were administered three times per week for 40 days. Evaluation of the motor-motor and behavioral effects of agents in conditions of toxic demyelination was carried out by analyzing motor and exploratory activity in the TruScan device (Coulbourn Inst., USA) according to the following indicators: total movement time, movement speed, distance traveled, time immobile, as well as by the number and time of inspection of holes in the floor of the chamber. The indicators were recorded for 2 min in each mouse on the 40th day of the experiment.

Results: Model of haloperidol catalepsy. 60 min after the administration of haloperidol, no significant difference was observed between the groups; after 120 min, a statistically significant decrease in the duration of catalepsy was observed in all study groups relative to the control, and after 180 min, a significant decrease in duration remained only in groups K-238 and K-302. Moreover, a significant effect was also found in the K-238 group compared to AMD. According to these data, it can be concluded that all the studied agents showed dopaminergic activity under conditions of blockade of D2-dopamine receptors with haloperidol, and agents K-238 and K-302 retained this activity longer than AMD. Thus, it has been established that azaadamantanes are able to reduce akinesia and rigidity characteristic of Parkinson's disease.

Model of arecoline tremor. Upon administration of the test substances K-282 and K-302, a significant decrease in the duration of tremor caused by arecoline was found compared to the AMD group and control. This fact indicates the presence of central M-anticholinergic activity in these agents. Compounds K-282 and K-302 are potentially effective agents for the prevention of tremor caused by hyperactivation of M-cholinergic receptors in the caudate nucleus, similar to the tremor form of Parkinson's disease.

Yohimbine toxicity model. Yohimbine selectively blocks $\alpha 2$ -adrenergic receptors, thereby causing an increase in the flow of norepinephrine into the synaptic cleft and causing a toxic effect. It was found that the agent K-282 reduces the total life expectancy after administration of yohimbine by 1.7 times, and AMD, K-238 and K-302 – by 1.2–

1.4 times compared to the control. The death of all animals in the group (6 out of 6 animals) during the observation period was recorded in groups K-238, K-282, K-302; in the AMD group, 83 % of mice died (5 out of 6), and in the control group, death occurred only in 69.2 % of cases (9 out of 13). Thus, all studied agents enhance the toxic effect of yohimbine and have a potentiating effect on the adrenergic system. An assumption has been made about the ability of the agents to block the action of the enzyme monoamine oxidase under conditions of increased release of norepinephrine into the synaptic cleft.

Model of toxic demyelination caused by cuprizone. Against the background of chronic intoxication with cuprizone, on the 40th day of the experiment, the decrease in locomotor indicators in the control group relative to the intact group was statistically insignificant, however, it was shown that the K-238 agent was significantly superior to the intact, control and AMD groups in the total time of locomotor activity, distance and speed of movement. Compound K-302 significantly increased the total duration of motor acts compared to the control, as well as indicators of distance and speed of movement relative to the AMD group. Agent K-302 also showed significantly higher exploratory activity relative to the intact, control, and AMD groups. Compound K-282 did not have a significant effect on indicators of locomotor and exploratory activity relative to control and AMD. Thus, compounds K-238 and K-302, under the conditions of the neurotoxic effect of cuprizone, have a stimulating effect on motor and exploratory activity. Such results may be related to the effect of the studied agents on dopaminergic and/or adrenergic transmission in the nervous system.

Conclusion: The results obtained show the prospects of using azaadamantane-type neuromodulators in neurodegenerative pathologies.

Funding: The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, project 23-25-00428.

Список литературы/References

1. Wanka L., Iqbal K., Schreiner P.R. The lipophilic bullet hits the targets: medicinal chemistry of adamantane derivatives. *Chem Rev.* 2013;113(5):3516-3604
2. Dong X., Wang Y., Qin Z. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin.* 2009;30(4):379-387
3. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К., 2012