Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ**

**ДУ «ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ»**

**КІДІН ЮРІЙ ВАЛЕРІЙОВИЧ**

УДК 615.015.23:615.214.32

**АНТИДЕПРЕСАНТНА АКТИВНІСТЬ НЕКОНКУРЕНТНИХ БЛОКАТОРІВ
NMDA-РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ ТА МЕХАНІЗМ ЇХ ДІЇ**

14.03.05 – фармакологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата медичних наук**

Київ – 2009

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Донецькому національному медичному університеті
ім. М. Горького МОЗ України, на кафедрі фармакології.

|  |  |
| --- | --- |
| **Науковий керівник:** | доктор медичних наук, професор, член-кореспондент АМН і НАН України, **Коміссаров Ігор Васильович**, Донецький національний медичний університет ім. М.Горького, професор кафедри фармакології |
| **Офіційні опоненти:** | доктор медичних наук, професор, Громов Леонід Олександрович, ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України» м. Київ, завідувач відділу нейрофармакології |
|  | доктор медичних наук, професор, Лук’янчук Віктор Дмитрович, Луганський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фармакології |

Захист дисертації відбудеться «\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2009 року о \_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України» за адресою: 03680, м. Київ, вул. Е. Потьє, 14.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України» за адресою: 03680, м. Київ, вул. Е. Потьє, 14.

Автореферат розісланий «\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2009 р.



Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

кандидат біологічних наук І.В. Данова

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Депресія – психічне захворювання, що найбільш часто зустрічається в практиці лікарів психіатрів (Kessler R.C. et al., 2003), та асоціюється з підвищеною смертністю (Zheng D. et al., 1997; Cuijpers P., Smit F., 2002), яка може бути результатом суїциду, або більш важкого перебігу соматичних захворювань (Rivelli S., Jiang W., 2007). Незважаючи на велику кількість існуючих антидепресантів, їх використання як засобів монотерапії, у комбінації один з одним, або в комплексі з немедикаментозними методами, також не дає стійких результатів (Shelton R.C., Tomarken A.J., 2001). Крім того, до 30% хворих на депресію є резистентними до терапії антидепресантами (Подкорытов В.С., Чайка Ю.Ю., 2002). Одним із пояснень такої ситуації є той факт, що патофізіологія депресій до кінця не зрозуміла і, у зв’язку з цим, медикаментозне лікування депресій має скоріше емпіричний характер, замість того, щоб бути спрямованим на конкретні механізми, що відповідають за виникнення цього патологічного стану.

Домінуючим напрямом у лікуванні депресій, починаючи з 50-х років, є використання медикаментів, що посилюють моноамінергічну передачу шляхом інгібіції ферментативного дезамінування або зворотного захоплення норадреналіну, серотоніну та дофаміну. Поява в останні роки препаратів, які здатні селективно блокувати зворотне захоплення серотоніну (флуоксетин, пароксетин), норадреналіну (мапротилін) або їх обох (Venlafaxine) дещо підвищило терапевтичну ефективність лікування депресій (Benkert O., Grunder G., Wetzel H., 1997). Однак висока частота виникнення побічних ефектів та недостатня результативність терапії цими засобами дають підставу для пошуку нових шляхів у лікуванні депресивних розладів (Lee E. Schechter et al., 2005). Причина такої ситуації може полягати в тому, що моноамінергічна стратегія просто не здатна дати більших результатів у лікуванні депресій, оскільки підвищення синаптичного рівня моноамінів є проксимальним етапом дії антидепресантів, що призводить до подальших змін функцій інших нейромедіаторних систем мозку. У цих умовах активація моноамінергічних процесів спостерігається вже через декілька годин після введення антидепресантів, проте терапевтична ефективність проявляється лише через 2-6 тижнів (Taylor M.J. et al., 2006). Час, необхідний для розвитку терапевтичного ефекту, це час, за який підвищена синаптична концентрація моноамінів призводить до вторинних змін функцій інших нейромедіаторних систем мозку, дисфункція яких безпосередньо відповідає за настрій та мотивації. Найбільше це стосується глутаматергічної системи (Абрамец И.И., 2006; Feyissa A.M. et al., 2009; Murck H. et al., 2009; Maeng S., Zarate C.A. Jr. 2007). Порушення функції глутаматергічної системи мозку в умовах депресії зводиться до зниження синаптичної концентрації норадреналіну та серотоніну, що призводить до пригнічення сигнального шляху: аденілатциклаза – цАМФ – протеїнкіназа А, та супроводжується зменшенням активності CREB (цАМФ-елемент-зв’язуючий білок), внаслідок цього знижується синтез BDNF (мозковий нейротрофічний фактор). Останній є нейротрофіном, та змінює синаптогенез та пластичні властивості глутаматергічних синапсів, що зводиться до відносної гіперфункції NMDA рецепторів за рахунок підтипу, що має NR1/NR2A субодиничну композицію (Абрамец И.И., 2006;). Виходячи зі сказаного вище, цілком резонним є вивчення антагоністів NMDA як засобів лікування депресій (Maeng S., Zarate C.A. Jr. 2007; Krystal J.H. et al., 2002; Berman R.M., Krystal J.H., Charney D.S., 1996), оскільки потенційно вони можуть викликати швидкий терапевтичний ефект та здатні подолати терапевтичну резистентність. Практичне значення обраної теми зростає у зв’язку з тим, що наукове обґрунтування та активне практичне впровадження нових технологій фармакотерапії є невід’ємною частиною вдосконалення медичного обслуговування населення України (Наприенко О. К., 2004).

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри фармакології на тему: «Експериментальне дослідження психотропної та нейропротекторної активності сполук, що змінюють функціональний стан НМДА рецепторів». Номер державної реєстрації 0106U010880, шифр УН. 07.01.01. Пошукачем виконана частина НДР, що стосується пошуку антидепресантів серед лігандів глутаматних рецепторів та вивчення механізмів їх дії.

**Мета дослідження.** Виявити особливості механізму антидепресантної дії неконкурентних антагоністів N-метил-D-аспартату, що впливають на функцію катіонних каналів, гліцин- та поліамін-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів глутамату.

**Задачі дослідження:**

1. Оцінити в електрофізіологічних дослідженнях активність тієнопірімідинових похідних монокарбонових амінокислот (сполуки серії ТСВ) як антагоністів NMDA.
2. Вивчити та проаналізувати антидепресивні та анксіолітичні ефекти сполук серії ТСВ в експериментальних моделях депресії та тривоги.
3. Вивчити та проаналізувати антидепресивні ефекти блокаторів іонних каналів та інших алостерічних модуляторів NMDA-рецепторів в експериментальних моделях депресії.
4. З’ясувати роль моноамінергічної, ГАМК- та опіоідергічної систем мозку в антидепресивних ефектах неконкурентних антагоністів N-метил-D-аспартату.

*Об’єкт дослідження.* Популяційні збуджуючі постсинаптичні потенціали (пЗПСП) у зрізах гіпокампу щурів, тривожні, депресивні стани і фенамінова стереотипія, що спостерігаються у щурів в умовах використання експериментальних сполук, та сполук-аналізаторів.

*Предмет дослідження.* Тієнопіримідинові похідні монокарбонових амінокислот (сполуки серії ТСВ), блокатори іонних каналів з швидкою (мемантин, мідантан) та дуже швидкою кінетикою взаємодії з NMDA-рецепторами (сполуки ІЕМ-1460, ІЕМ-1592, ІЕМ-1490, ІЕМ-1755); позитивні (спермін) і негативні (аркаїн, ІЕМ-1460, ІЕМ-1592, ІЕМ-1490, ІЕМ-1755) модулятори поліамін-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів, позитивний модулятор гліцин-зв’язуючого сайту NMDA-рецепторів (гліцин), антидепресант (іміпрамін), що використовувався як еталон.

*Методи дослідження.* Електрофізіологічні, фармакологічні та статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше виявлено та вивчено здатність тієнопіримідинових похідних монокарбонових (нейтральних) амінокислот блокувати гліцин-зв’язуючі сайти NMDA-рецепторів та здійснювати за рахунок цього антидепресивні ефекти на моделях примусового плавання та резерпінової депресії. У тих самих методичних умовах виявлені антидепресивні ефекти канального блокатора NMDA-рецепторів з швидкою кінетикою взаємодії (мемантин), і продепресивні властивості сполук серії ІЕМ (ІЕМ 1460, ІЕМ 1490 та ІЕМ 1592), що демонструють одночасно властивості негативних парціальних модуляторів поліамін-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів і блокаторів їх катіонних каналів з дуже швидкою кінетикою взаємодії. Вперше висловлено думку про нездатність негативних модуляторів поліамін-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів викликати антидепресивні ефекти, оскільки останні пов’язані з NR2A субодиницею, у той час як центр зв’язування поліамінів локалізований у NR2B субодиниці NMDA-рецепторів. Вперше показано, самодостатність блокаторів гліцин-зв’язуючих сайтів (сполуки ТСВ 31.54, ТСВ 24.85, ТСВ 24.15) і блокаторів відкритих каналів NMDA-рецепторів (мемантин) у реалізації їх антидепресивних ефектів і несуттєвість моноаміергічного компоненту в механізмі їх антидересантної дії. Показано також, що блокада µ-опіатних рецепторів налоксоном, але не ГАМКа-рецепторів пікротоксином, здатна значно зменшувати антидепресивні ефекти негативних модуляторів гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів (ТСВ 31.54). Це вірогідно зумовлено здатністю ендогенних опіатів пресинаптично зменшувати квантове вивільнення глутамату у відділах мозку, що беруть участь у формуванні антидепресантних ефектів блокаторами NMDA-рецепторів, а саме ТСВ-31.54. Останнє може бути розцінене як ще одне підтвердження думки про те, що порушення глутаматергічної передачі є термінальною ланкою у патогенезі депресивних розладів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати досліджень показують доцільність подальшого вивчення тієнопіримідинових похідних гліцину (ТСВ 31.54) і проліну (ТСВ 24.15, ТСВ 24.85) як антидепресантів, оскільки механізм їх дії дає підставу очікувати від цих сполук здатність викликати швидкий клінічний ефект і меншу терапевтичну резистентність. Дані дисертаційної роботи, що стосуються особливостей механізму антидепресивних ефектів неконкурентних антагоністів NMDA, а саме, відомості про самодостатність його для реалізації тимолептичних властивостей, впроваджені у навчальний процес на кафедрі фармакології Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота виконана автором самостійно. Дисертантом самостійно обґрунтовано актуальність проведених досліджень, їх мету, задачі, проаналізовано дані наукової літератури. Автором самостійно був проведений патентно-інформаційний пошук. Самостійно виконано поведінкові тести, було проведено аналіз, статистичну обробку й інтерпретацію отриманих результатів, сформульовано висновки і практичні рекомендації. Самостійно написано всі розділи дисертаційної роботи, автореферат, підготовлено наукові матеріали до публікацій. Підрозділ 3.2 виконано за методичною та технічною допомогою професора І.І. Абрамца. Автором не були використані наукові результати та ідеї, які належать співавторам опублікованих робіт.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень були оприлюднені на II науково-практичній конференції молодих учених та спеціалістів «Актуальні проблеми фармакології та токсикології» (Київ, 2005), на засіданнях Донецької наукової спілки фармакологів (2006, 2007, 2008), опубліковані у тезах II науково-практичної конференції молодих учених та спеціалістів «Актуальні проблеми фармакології та токсикології» (Київ, 2005), та в тезах за матеріалами науково-практичної конференції молодих учених «Актуальні питання медицини і фармації» (Запоріжжя, 2008), та 71-ї міжнародної науково-практичної конференції молодих учених «Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини, стоматології, фармації» (Донецьк, 2009).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць, з них 6 у фахових наукових виданнях, затверджених ВАК України (з них 2 – одноосібні), 3– в матеріалах з’їздів та конференцій, і один патент.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи досліджень», 3-х розділів власних експериментальних досліджень, закінчення та висновків. Робота викладена на 148 сторінках комп’ютерного тексту, ілюстрована 12 малюнками та 12 таблицями. Список використаних літературних джерел містить 240 найменувань, з яких 25 кирилицею і 215 латиницею.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** З метою вирішення задач дослідження проводили дослідження на переживаючих зрізах гіпокампу щурів in vitro та в поведінкових моделях на щурах in vivo. Активність тієнопіримідинових похідних монокарбонових амінокислот (сполуки серії ТСВ) як антагоністів NMDA-Rs оцінювали в електрофізіологічних тестах шляхом визначення IC50 – концентрації, що зменшує амплітуду NMDA-компоненти пЗПСП нейронів зубчатої звивини на 50%. Виявлення антидепресантних властивостей досліджуваних сполук відбувалося шляхом оцінки їх впливу на поведінку тварин у моделях, що імітують депресивні стани у людей (поведінкові тести). Як така використовувалась модель стрес-індуктованої депресії, що викликалася форсованим (примусовим) плаванням – тест Порсолта (Porsolt R.D., 1983, Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M., 1977, Щетинин Е.В. и соавт., 1989) та модель резерпінової депресії (Лапин И.П., 1968, Машковский М. Д., Андреева Н. И., Полежаева А.И., 1983). Остання, крім того, у поєднанні з методом “фенамінової стереотипії” (Щелкунов Е.Л., 1964) була використана для з’ясування ролі моноамінергічної системи в антидепресивних ефектах досліджуваних сполук. З цією ж метою було проведено серію дослідів з послідовним введенням досліджуваних сполук, та іміпраміну з подальшою оцінкою ефектів такої комбінації у тесті Порсолта. Про роль ГАМК- та опіоідергічної систем в антидепресивних ефектах неконкурентних антагоністів NMDA також робили висновок із впливу сполук аналізаторів на антиіммобілізаційні ефекти антагоністів NMDA на моделі Порсолта. Однак як сполуки-аналізатори використовували не іміпрамін, а пікротоксин і налоксон, відповідно. Сполуки серії ТСВ також досліджували на моделі «конфліктної ситуації» на предмет наявності у них властивостей анксіолітиків (Клыгуль Е.А., 1966). Наявність чи відсутність міорелаксуючої активності перевіряли методом обертаючогося стрижня (Dunham N.W., Miya T.S., 1957). Токсичність сполук серії ТСВ досліджували експрес-методом за В.Б. Прозоровським (1978). Статистичну обробку цифрових даних проводили у середовищі ліцензійної копії пакету MedStat із застосуванням базових методів математичної статистики. Для кожної вибірки перевірявся закон нормального розподілення. Більшість вибірок були нормально розподілені, для них розраховували середню арифметичну для групи тварин, стандартну помилку середньої і вірогідність нульової гіпотези (Р) – критерій Стьюдента (t- критерій). Під час визначення активності сполук in vitro, крім того, розраховували IC50. Під час розподілу, відмінного від нормального, для порівняння двох вибірок використовували непараметричні тести: Мана-Уітні (для двох незалежних вибірок), і тест Уілкоксона, для двох залежних вибірок.

**Результати та їх обговорення.** На першому етапі проводили електрофізіологічне дослідження активності тієнопіримідинових похідних монокарбонових амінокислот (сполуки серії ТСВ) як антагоністів N-метил-D-аспартату, та поведінковий аналіз їх антидепресантних й анксіолітичних властивостей. Синтезовані в інституті фізико-органічної хімії та вуглехімії м. Донецька тієнопіримідинові похідні монокарбонових амінокислот (сполуки серії ТСВ) були досліджені електрофізіологічно з метою виявлення у них властивостей антагоністів NMDA. У групу з восьми сполук входили: одна похідна гліцину (ТСВ-31.54), три похідних проліну (ТСВ-24.85, ТСВ-24.15 и ТСВ-30.47), одна похідна лейцину (ТСВ-22.62) та три похідних ізолейцину (ТСВ-22.85, ТСВ-24.27 та ТСВ-24.72). Про здатність блокувати NMDA-рецептори робили висновки на основі пригнічення вичлененої NMDA компоненти пЗПСП зернистих клітин зубчастої звивини гіпокампу з додаванням розчину досліджуваних сполук. Дослідивши кожну сполуку в трьох концентраціях (1, 3 та 10 мкМ) на чотирьох зрізах, визначали NMDA блокуючу активність для кожного з них, критерієм якої була концентрація IC50, що виражалася в мкМ. Найбільш активними виявились тієнопіримідинові похідні проліну, менш активні похідні лейцину та гліцину, і завершують список похідні ізолейцину (таблиця 1). Однак сказати, що NMDA-блокуюча активність сполук серії ТСВ залежить лише від амінокислотної частини не можна. Так, сполуки ТСВ-31.54 та ТСВ 22.85 розрізняються в амінокислотній частині, проте мають однакову тієнопірімідинову частину і мають при цьому співвідносну активність (6,05±0,50 и 8,50±0,96, відповідно). У той же час, три похідних ізолейцину (ТСВ-24.85, ТСВ-24.27 та ТСВ-24.72) розрізняються між собою лише тієнопіримідиновою частиною, що призвело до значних відмінностей у їх здатності блокувати NMDA (8,50±0,96, 18,8±3,10 и >30, відповідно). Таким чином, здатність сполук серії ТСВ блокувати NMDA-рецептори залежить як від амінокислотної частини (від більшого до меншого: пролін, лейцин, гліцин, ізолейцин), так і від тієнопіримідинової частини молекули. Додавання до середи D-серину (1 мкМ), що є природним активатором гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів, призвело до зниження здатності ТСВ 24.85 пригнічувати пЗПСП зернистих клітин зубчастої звивини гіпокампу. Це свідчить про те, що тієнопіримідинові похідні монокарбонових амінокислот (сполуки ТСВ) блокують гліцин-зв’язуючі сайти NMDA-рецепторів глутамату.

Таблиця 1

Співвідношення антидепресантних властивостей сполук серії ТСВ з їх активністю як антагоністів NMDA in vitro

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Лабораторний шифр | Аміно-кислотний залишок | IC50±SxмкМ | Тест Порсолта |
| Доза,мг/кг | Кількість іммобілі-зацій > 6 сек, M±m | Сумарний час іммобілізації, секM±m,  |
| Контроль | – | – | – | 3,42±0,15 | 210,5±13,3 |
| ТСВ 31.54 | Гліцин | 6,05±0,50 | 10 | 4,72±0,38 | 104,2±11,1\* |
| ТСВ 24.15 | Пролін | 2,75±0,47 | 10 | 3,25±0,27 | 146,4±16,1\* |
| ТСВ 24.15 | Пролін | 2,75±0,47 | 30 | 3,75±0,17 | 174,0±11,5 |
| ТСВ 24.85 | Пролін | 2,50±0,20 | 10 | 4,54±0,25\* | 171,1±9,0\* |
| ТСВ 30.47 | Пролін | 4,50±0,86 | 10 | 3,83±0,4 | 181,0±10,9 |
| ТСВ 22.62 | Лейцин | 5,25±1,10 | 10 | 3,92±0,23 | 208,2±20,7 |
| ТСВ 22.85 | Ізолейцин | 8,50±0,96 | 10 | 4,10±0,23 | 210,9±14,8 |

\* – Р<0,05 у порівнянні з контролем

Шість сполук серії ТСВ з прийнятною NMDA антагонізуючою активністю (IC50 менш ніж 10 мкМ) були досліджені в тесті примусового плавання для виявлення серед них сполук з антидепресивною активністю. Найбільш активні in vitro похідні проліну ТСВ-24.15 и ТСВ-24.85, що вводилися внутрішньочеревинно в дозі 10 мг/кг за 30 хвилин до досліду достовірно скорочували сумарний час іммобілізації (СЧІ), демонструючи антидепресивні ефекти (табл. 1). Цікаво, що збільшення дози ТСВ-24.15 у три рази не призвело до збільшення антидепресивних ефектів, а, навпаки, проявилося їх повним усуненням (табл. 1). Найбільш виражене скорочення СЧІ у тесті Порсолта спостерігалося після введення похідного гліцину (ТСВ-31.54, 10 мг/кг). Антидепресивний ефект ТСВ-31.54 повністю усувався гліцином, що вводився внутрішньочеревинно в дозі 50 мг/кг за 30 хвилин до введення досліджуваної сполуки. Така доза гліцину була вибрана, виходячи з даних про здатність гліцину збільшувати функцію глутаматергічних синапсів в дозі 50 мг/кг (Комиссаров И.В., Журавский А.В., Гмиро В.Е., 2003).

ТСВ-24.15 и ТСВ-31.54, що демонстрували антидепресивні властивості після однократного введення, і ТСВ-22.85, що не показував таких, вводилися щурам внутрішньочеревинно (10 мг/кг) протягом 14 днів, оскільки відомо, що дія класичних антидепресантів краще виявляється при їх тривалому (2-5 тижнів) систематичному використанні. Жодна зі сполук не скорочувала сумарний час іммобілізації, однак ТСВ-24.15 і ТСВ-31.54 призвели до зменшення індексу депресивності, що також є показником антидепресивної активності (Щетинин Е.В. и соавт., 1989).

На моделі резерпінової депресії ТСВ 31.54 подібно до іміпраміну, зменшував птоз, спричинений резерпіном, (Р=0,019), а ТСВ 24.85 має тенденцію до такої дії (Р=0,09). Ці дані підтверджують наявність антидепресивної активності у блокаторів гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів глутамату.

Зменшення антидепресантоподібних властивостей ТСВ 24.15 при збільшенні його дози, попередження розвитку антидепресивних ефектів ТСВ 31.54 попереднім введенням гліцину, частковий антидепресивний ефект ТСВ 24.15 и ТСВ 31.54 після тривалого їх введення, що проявлявся зниженням індексу депресивності без суттєвого скорочення сумарного часу іммобілізації, разом з даними електрофізіологічних досліджень дають підстави думати, що тієнопіримідинові похідні проліну (ТСВ-24.15, ТСВ-24.85) і гліцину (ТСВ-31.54) є парціальними агоністами («агоністами-антагоністами») гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів.

ТСВ 31.54 в дозі 3 мг/кг і 10мг/кг внутрішньочеревинно, а також ТСВ 24.15 в дозі 10 мг/кг і ТСВ 24.85 в дозі 3 мг/кг викликають анксіолітичні ефекти на моделі «конфліктної ситуації», збільшуючи кількість взять води (табл. 2). Анксіолітична активність сполук серії ТСВ не супроводжується міорелаксуючою дією. Про це свідчить нездатність цих сполук знижувати рухову активність (табл. 2), та відсутність у них впливу на м’язовий тонус на моделі обертаючогося стрижня. Те, що сполуки серії ТСВ чинять анксіолітичні ефекти в дозах, які не викликають міорелаксації, означає, що свої ефекти вони реалізують не за рахунок збільшення ГАМК-ергічного гальмування, а безпосередньо за рахунок зниження глутаматергічної нейротрансмісії.

Таблиця 2

Анксіолітична активність тієнопіримідинових похідних монокарбонових амінокислот (препаратів серії ТСВ)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Сполука | Доза мг/кг | Рухова активністьМ±m | Підходи до поїлкиМ±m | Число взять водиМ±m |
| ТСВ-31.54 | 0 (контроль) | 45,2±2,26 | 3,8±0,37 | 1,8±0,37 |
| 3 | 36,1±1,3\* | 5,66±0,49\* | 4,5±0,43\* |
| 10 | 29,6±2,37\* | 9,5±0,56\* | 11,5±0,76\* |
| ТСВ-24.15 | 0 (контроль) | 54,2±1,8 | 3,0±0,36 | 1,5±0,22 |
| 3 | 53±1,3 | 4,0±0,58 | 2,29±0,42 |
| 10 | 43,8±0,94\* | 6,17±0,4\* | 5,0±0,58\* |
| ТСВ-24.85 | 0 (контроль) | 42,6±7,05 | 6,2±0,97 | 1,0±0 |
| 3 | 26,0±4,3 | 9,0±0,89 | 1,8±0,37\* |
| 10 | 11,0±3,2\* | 12,6±1,8\* | 1,8±0,66 |

\* – Р<0,05 у порівнянні з контролем

Дані літератури про те, що генетична інактивація NR2A субодиниці NMDA-рецепторів супроводжується як антидепресивними, так і анксіолітичними ефектами (Janel M Boyce-Rustay, Andrew Holmes, 2006), дають підстави думати, що антагоністи N-метил-D-аспартату, що мають одночасно властивості антидепресантів та анксіолітиків, реалізують властиві їм ефекти за рахунок блокади NMDA-рецепторів NR1/NR2A субодиничної композиції. З цього виходить, що тієнопірімідинові похідні гліцину (ТСВ-31.54) і проліну (ТСВ-24.15, ТСВ-24.85) викликають антидепресивні та анксіолітичні ефекти за рахунок блокади гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів, що, вірогідно, мають NR1/NR2A субодиничну композицію.

LD50 ТСВ 31.54 склала 1120 мг/кг (920–134 мг/кг), що більше ніж у 100 разів перевищує дози, які чинять антидепресивні та анксіолітичні ефекти.

В подальшому вивчали антидепресантні властивості канальних блокаторів та інших алостеричних модуляторів NMDA-рецепторів. Мемантин, що блокує відкриті канали NMDA-рецептрів, подібно до іміпраміну скорочує сумарний час іммобілізації у тесті Порсолта (рис. 1) та збільшує пригнічену резерпіном локомоцію щурів на моделі резерпінової депресії (Р=0,001), після його внутрішньочеревного введення в дозі 10 мг/кг, що свідчить про наявність у мемантину антидепресантих властивостей. Його структурний аналог мідантан у тій самій дозі не скорочував сумарний час та кількість іммобілізацій на моделі примусового плавання. Це підтверджує дані про меншу здатність мідантану блокувати NMDA-рецептори в порівнянні з мемантином (Parsons L.G. et al., 1995).



Рис. 1. Сумарний час іммобілізації щурів у тесті примусового плавання після однократного введення досліджуваних сполук (\* – вірогідність нульової гіпотези Р<0,05): 1 – вода (контроль); 2 – іміпрамін, 15 мг/кг; 3 – мемантин, 10 мг/кг; 4 – мідантан, 10 мг/кг; 5а – аркаїн, 10 мг/кг; 5б – аркаїн, 20 мг/кг; 6 – спермін, 10 мг/кг; 7 – ІЕМ 1755, 10 мг/кг; 8 – ІЕМ 1490, 10 мг/кг; 9 – ІЕМ 1460, 10 мг/кг; 10 – ІЕМ 1592, 10 мг/кг; 11 – гліцин, 50 мг/кг.

Модулятори поліамін-зв’язуючих сайтів, що мають властивості активаторів (спермін), блокаторів (аркаїн) і парціальних модуляторів (сполуки серії ІЕМ) місць зв’язування поліамінів, не скорочують СЧІ та кількість періодів іммобілізації у тесті Порсолта при їх однократному та 12 денному (аркаїн, ІЕМ 1490) уведенні. Більше того, ІЕМ 1490, ІЕМ 1460, та ІЕМ 1592 в дозі 10 мг/кг внутрішньочеревно значно збільшують сумарний час іммобілізації, демонструючи продепресивні ефекти (рис. 1). Аркаїн, спермін, ІЕМ 1490 та ІЕМ 1460 не усувають птоз та гіпокінезію, що була викликана внутрішньочеревним введенням резерпіну (4мг/кг через 30 хвилин після введення сполук, що досліджуються), що підтверджує відсутність у них антидепресантних властивостей.

Виявлена відсутність антидепресантної активності у модуляторів поліамін-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів може бути пояснена тим, що сайт зв’язування поліамінів локалізується у NR2B субодиниці (Danysz W., Parsons C.G., 1998), в той час як антидепресивні ефекти блокаторів NMDA-рецепторів, вірогідно, пов’язані зі зниженням функції рецепторів NR1/NR2A субодиничної композиції (Janel M Boyce-Rustay, Andrew Holmes, 2006). З огляду на те, що гліцин-зв’язуючий сайт локалізований у NR1 субодиниці (Grimwood S., Lebourdelles B., Whiting P.S., 1995b; Siegel B.W., Sreekrishna K., Baron B.M., 1996), блокада гліцин-зв’язуючих сайтів призводить до зниження функції усіх підтипів NMDA-рецепторів, у тому числі і NR1/NR2A субодиничної композиції, та чинить антидепресивні ефекти (Ewa Poleszak et al., 2007; Trullas R., Skolnick P., 1990; Przegalinski E. et al., 1997; Trullas R. et al., 1991; Papp M., Moryl E., 1996). У той же час сам гліцин у дозі 50 мг/кг демонструє тенденцію до продепресивних ефектів на моделі примусового плавання (мал. 1).

Продепресивні ефекти полиаминів, що містять адамантил (ІЕМ 1460, ІЕМ 1490 и ІЕМ 1592), можуть бути пояснені наявністю у них властивостей «дуже швидких» блокаторів каналів NMDA-рецепторів. Кінетика дисоціації та повторного зв’язування з субстратом у цих сполук настільки велика, що канал не встигає закритися та сумарна кількість катіонів, що надходять у нейрон, істотно збільшується (Johnson J.W. et al., 1995), у зв’язку з цим відбувається позитивне модулювання NMDA-рецептурного комплексу, що в умовах моделі примусового плавання проявляється продепресивним ефектом.

Наявність антидепресантної активності встановлено як у блокаторів катіонного каналу, так і блокаторів сайтів NMDA-рецепторів, що зв’язують гліцин. Однак не зрозуміло, чи є зниження глутаматергічної передачі безпосередньою причиною антидепресивної активності досліджуваних сполук, або ці ефекти виникають за рахунок вторинних змін функції інших нейромедіаторних систем. З метою відповіді на це питання було проведено дослідження ролі моноамінергічної, ГАМК- та опіоідергічної систем в антидепресивних ефектах неконкурентних антагоністів N-метил-D-аспартату.

Про роль моноамінергічних процесів у механізмі антидепресантної дії досліджуваних антагоністів NMDA робили висновки на основі їх впливу на поведінкові ефекти сполук, що змінюють функцію моноамінергічних синапсів. Оцінювали ефекти комбінованого використання антагоністів NMDA та іміпраміну у тесті Порсолта, а також вплив досліджуваних сполук на тривалість фенамінової стереотипії та прояви резерпінової депресії.

У тесті Порсолта внутрішньочеревне введення іміпраміну, мемантину і ТСВ 31.54 за годину до досліду визиває значне скорочення сумарного часу іммобілізації та індексу депресивності у щурів (рис. 2). ТСВ 24.85 достовірно знижує ІД, проте не чинить значного впливу на СЧІ. Антиіммобілізаційний ефект іміпраміну, що діє на фоні попередньо введеного мемантину або ТСВ 31.54 (схема введення: досліджувана сполука, через 30 хвилин іміпрамін, через 30 хвилин експеримент) перевищує ефект одного іміпраміну (Р=0,0002 и Р=0,047, відповідно), проте достовірно не відрізняється від ефектів мемантину та ТСВ 31.54, що вводяться без іміпраміну (Р=0,49 і Р=0,36, відповідно). При аналізі індексів депресивності були отримані подібні результати. Застосування іміпраміну на фоні введених мемантину або ТСВ 24.85 не призводить до істотного скорочення ІД, введення ж іміпраміну через 30 хвилин після ТСВ 31.54 призвело до зростання ІД порівняно з ефектами одного іміпраміну або ТСВ 31.54 (рис. 2).

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| Рис. 2. Вплив досліджуваних сполук та їх комбінацій з іміпраміном на сумарний час іммобілізації (ліворуч, сек) та індекс депресивності (праворуч) у тесті примусового плавання: 1. 2% р-н натрію двовуглекислого + через 30 хвилин дистильована вода; 2. 2% р-н натрію двовуглекислого + через 30 хвилин іміпрамін 10 мг/кг; 3. Мемантин 10 мг/кг + через 30 хвилин дистильована вода; 4. Мемантин 10 мг/кг + через 30 хвилин іміпрамін 10 мг/кг; 5. ТСВ-31.54 10 мг/кг + через 30 хвилин дистильована вода; 6. ТСВ-31.54 10 мг/кг + через 30 хвилин іміпрамін 10 мг/кг; 7. ТСВ-24.85 10 мг/кг + через 30 хвилин дистильована вода; 8. ТСВ-24.85 10 мг/кг + через 30 хвилин іміпрамін 10 мг/кг. |

Отримані дані свідчать про те, що іміпрамін в дозі, що істотно скорочує сумарний час іммобілізації та індекс депресивності у тесті Порсолта, не потенціює антидепресивні ефекти неконкурентних антагоністів N-метил-D-аспартату. Це свідчить про самодостатність алостеричних блокаторів NMDA-рецепторів як факторів, що спричиняють антидепресивний ефект (принаймні на моделі примусового плавання), та про невелику значимість високої синаптичної концентрації ендогенних моноамінів (НА, 5-НТ) у пусковому механізмі антидепресивної дії неконкурентних антагоністів NMDA. Стрес сам по собі супроводжується посиленням функції катехоламінергічних синапсів (Sabban E.L., Kvetnansky R., 2001), а спричинене іміпраміном додаткове підвищення внутрішньосинаптичних концентрацій НА і/або 5-НТ є не суттєвим для зміни активності глутаматергічних нейронів, що регулюють рівень тривожності та депресивності. При цьому, однак, не виключена роль високих концентрацій моноамінів у наступних цАМФ-залежних процесах, що ведуть до формування стійкого антидепресивного ефекту.

Оскільки антидепресанти, пусковим механізмом дії яких є підвищення синаптичної концентрації моноамінів, пролонгують фенамінову стереотипію (Машковский М. Д., Андреева Н. И., Полежаева А.И., 1983; Greese J., Iversen D., 1974), тієнопіримідинові похідні гліцину (ТСВ 31.54) та проліну (24.15, 24.85) були досліджені на моделі фенамінової стереотипії. Жодна з досліджуваних сполук в дозі, що викликає антидепресивні ефекти у тесті Порсолта (10 мг/кг), не спричиняла пролонгування фенамінової стереотипії, при введенні їх за 30 хвилин до ін’єкції 8 мг/кг фенаміну. Неспроможність сполук серії ТСВ пролонгувати фенамінову стереотипію свідчить про те, що їх антидепресивні ефекти пов’язані з процесами, що не залежать від підвищення синаптичної концентрації моноамінів.

Алостеричні блокатори NMDA-рецепторів самі по собі не викликають підвищення синаптичної концентрації моноамінів, у той же час, підвищення останньої іміпраміном не призводить до потенціювання їх антидепресивних ефектів. Це свідчить про несуттєвість високих синаптичних концентрацій моноамінів в антидепресивній дії неконкурентних антагоністів NMDA-рецепторів. Однак, чи здатні антагоністи NMDA викликати антидепресантні ефекти в умовах дефіциту моноамінів? Останній стан досягається введенням резерпіну, і проявляється у щурів та мишей у формі «резерпінової депресії», критеріями якої є птоз, гіпокінезія та гіпотермія. ТСВ 31.54 подібно до іміпраміну, зменшував птоз, спричинений резерпіном, (Р=0,019), а ТСВ 24.85 має тенденцію до такої дії (Р=0,09). Мемантин достовірно не зменшував птоз, спричинений резерпіном, проте відновлював локомоцію щурів, що була подавлена резерпіном (Р=0,001). Таким чином, блокатори катіонного каналу (мемантин) і парціальні агоністи гліцин-зв’язуючого сайту (сполуки серії ТСВ) виявляються спроможними викликати антидепресантні ефекти в умовах дефіциту синаптичної концентрації моноамінів.

Відсутність потенціювання антидепресивних ефектів неконкурентних антагоністів NMDA іміпраміном у тесті Порсолта, їх неспроможність пролонгувати фенамінову стереотипію та властивий їм антагонізм з резерпіном на моделі резерпінової депресії свідчать про малу значимість моноамінергічного компоненту в пусковому механізмі антидепресивної дії алостеричних блокаторів NMDA-рецепторів. Механізм дії антидепресантів, що зараз застосовуються, починається з підвищення синаптичної концентрації моноамінів. Посилення активації β-адренорецепторів (β-АRs) та серотонінових рецепторів (НТ2,6,7-Rs) змінює внутрішньоклітинну трансмісію, що веде до підвищення активності цАМФ-залежної протеїнкінази А (ПКА) і Са2+/кальмодулінкінази (СаМК). Ці процеси первинно ведуть до підвищення афінітету глутаматних рецепторів в «інтегративних» нейронах, що забезпечують емоційну оцінку ситуації, рівень тривоги й депресивності (Комиссаров И.В., 2004; Раевский К.С., 2002; Vetulani J., Nalepa I., 2000). Однак тривале підвищення синаптичної концентрації моноамінів, що спостерігається за умови систематичного (1-4 тижня) вживання антидепресантів, призводить до десенситизації та інтерналізації β-АRs і НТ-Rs та подальшого зниження функції глутаматних рецепторів на «інтегративних» нейронах, що клінічно проявляється антидепресивними ефектами (Комиссаров И.В., 2004; Vetulani J., Nalepa I., 2000). Неконкурентні антагоністи NMDA безпосередньо діють на NMDA-рецептори, знижуючи їх функціональну активність, що проявляється антидепресивними ефектами, які, як підтверджують вищенаведені дані, не залежать від рівня функціонування моноамінергічної системи.

Оскільки ГАМК- та опіоідергічна системи грають важливу роль у патогенезі депресивних розладів (Maubach K.A. et al., 1999), необхідно було відповісти на питання про залучення цих нейромедіаторних систем в антидепресивні ефекти антагоністів NMDA, що досліджувались. Про роль ГАМК- та опіоїдної систем в антидепресантної дії неконкурентних антагоністів NMDA робили висновки зі здатності останніх реалізувати антидепресивні властивості на моделі примусового плавання в умовах блокади ГАМКа або опіатних рецепторів, відповідно. Останнє досягалося шляхом введення налоксону у дозі 0,8 мг/кг, що усуває антидепресантні ефекти морфіну та флуоксетину (Gray A.M., Spencer P.S., Sewell R.D., 1998; Zomkowski A.D., Santos A.R., Rodrigues A.L., 2005) або субсудомних доз пікротоксину (1,25 мг/кг) (Poncelet M. et al., 1987) за 30 хвилин до введення ТСВ 31.54. Через 30 хвилин після введення ТСВ 31.54 тварину поміщували у басейн, де оцінювали тривалість СЧІ, кількість періодів тривалих завмирань, а також індекс депресивності. Результати порівнювали з контролем (дистильована вода і через 30 хвилин розчинник), з ефектами одного ТСВ 31.54 (дистильована вода і через 30 хвилин ТСВ 31.54 10 мг/кг) та з ефектами однієї сполуки аналізатора (пікротоксин або налоксон і через 30 хвилин розчинник).

ТСВ 31.54, так само як і пікротоксин, коли вводяться внутрішньочеревним способом, скорочують сумарний час іммобілізації (Р=0,039 та Р=0,005, відповідно) та індекс депресивності (Р=0,0003 та Р=0,001), що свідчить про наявність у кожного з них антидепресантних властивостей. Одночасне введення їх обох також веде до скорочення СЧІ та ІД (Р=0,0009 та Р=0,0007, відповідно), однак ці ефекти не перевищують таких від введення ТСВ 31.54 або пікротоксину по одинці. Таким чином, зниження ГАМК-ергічного гальмування виявляється не суттєвим для реалізації антидепресивних ефектів ТСВ 31.54 в тесті Порсолта, що свідчить про незначну роль цієї нейромедіаторної системи в антидепресивних властивостях негативних модуляторів гліцин-зв’язуючого сайту NMDA-рецепторів.

На відміну від пікротоксину, налоксон, що вводиться внутрішньочеревинно з розчинником, не змінює індексу депресивності а також сумарного часу та кількість іммобілізацій (табл. 3). Однак введення його за 30 хвилин до ТСВ 31.54 призводить до значного зменшення антидепресивних ефектів останнього (табл. 3). Така дія налоксону, напевно, реалізується за рахунок блокади пресинаптичних µ-опіатних рецепторів у відділах мозку, що відповідальні за формування антидепресантних ефектів блокаторів NMDA-рецепторів, зокрема ТСВ-31.54.

Блокада цих рецепторів налоксоном усуває гальмівну дію ендогенних опіатів на квантове вивільнення глутамату (Ostermeier A.M. et al., 2000). У цих умовах концентрація глутамату в синапсах збільшується і блокатори NMDA-рецепторів, що використовуються у звичайній дозі, вже не спроможні викликати антидепресантні ефекти.

Таблиця 3

Вплив налоксону на антидепресантоподібні властивості ТСВ-31.54 та іміпраміну у тесті примусового плавання

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Кількість тварин у групі | СЧІ, сек | Кількість періодів іммобілізації, що перевищують 10 сек | ІД |
| Контроль: вода + 2% р-н соди | 10 | 186,3±18,1145,5÷227,2 | 3,7±0,492,6÷4,8 | 1,46±0,171,1÷1,8 |
| Вода + ТСВ 31.54 | 10 | 135,5±13,3\*105,6÷166,0 | 6,0±0,73\*4,3÷7,7 | 0,77±0,1\*0,54÷1,01 |
| Налоксон + 2% р-н соди | 12 | 160,3±13,8129,8÷196,7 | 3,75±0,432,8÷4,7 | 1,73±0,181,32÷2,13 |
| Налоксон + ТСВ 31.54 | 12 | 144,6±12,3117,4÷171,7 | 4,8±0,533,7÷6,6 | 1,69±0,320,98÷2,39 |
| Налоксон + меліпрамін | 11 | 136,2±14,7\*103,4÷168,9 | 3,72±0,352,9÷4,5 | 1,06±0,160,69÷1,42 |

\* – вірогідність нульової гіпотези Р<0,05

Таким чином, неконкурентні антагоністи NMDA реалізують свої антидепресантні властивості незалежно від функціональної активності ГАМК- і моноамінергічної систем мозку, при цьому блокада опіатних рецепторів налоксоном знижує їх антидепресивні ефекти, вірогідно, за рахунок збільшення синаптичної концентрації глутамату.

**ВИСНОВКИ**

У дисертації запроваджено нове рішення актуальної наукової задачі, що полягає у експериментальному дослідженні антидепресантних властивостей неконкурентних антагоністів N-метил-D-аспартату, що впливають на функцію катіонних каналів, гліцин- та поліамін-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів, та теоретичному обґрунтуванні доцільності використання блокаторів гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів глутамату як антидепресантів.

1. Тієнопіримідинові похідні гліцину (ТСВ 31.54), проліну (ТСВ 24.15, ТСВ 24.85, ТСВ 30.47), лейцину (ТСВ 22.62) та ізолейцину (ТСВ 22.85) в електрофізіологічних дослідженнях in vitro виявляють властивості антагоністів N-метил-D-аспартату (IC50: 6,05±0,50, 2,75±0,47, 2,50±0,20, 4,50±0,86, 5,25±1,10, 8,50±0,96 мкМ, відповідно до наведеного вище порядку). Антагонізм сполук серії ТСВ з N-метил-D-аспартатом є неконкурентним і здійснюється за рахунок блокади ними гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів.
2. На моделі примусового плавання ТСВ 31.54, ТСВ 24.15 і ТСВ 24.85 у дозі 10 мг/кг виявляють антидепресивну (іміпраміноподібну) активність, скорочуючи сумарний час іммобілізації в порівнянні з контролем на 50,5%, 30,5% и 18,8%, відповідно (Р<0,05).
3. На моделі «резерпінової депресії» сполуки серії ТСВ та канальний блокатор NMDA-рецепторів мемантин демонструють антидепресантні властивості, зменшуючи спричинений резерпіном птоз (ТСВ 31.54, Р<0,05) та гіпокінезію (мемантин, Р<0,05).
4. ТСВ 31.54, ТСВ 24.15 і ТСВ 24.85 на моделі конфліктної ситуації демонструють анксіолітичну активність, збільшуючи кількість взять води, за якими йде покарання, в дозі 3мг/кг (ТСВ 24.85), 10 мг/кг (ТСВ 24.15), або обох цих дозах (ТСВ 31.54). Анксіолітична активність цих сполук не супроводжується міорелаксуючою дією.
5. Як антидепресивна, так і анксіолітична активність реалізується за рахунок здатності сполук серії ТСВ негативно модулювати гліцин-зв’язуючі сайти NMDA-рецепторів та виявляється при використанні доз, які більш ніж у сто разів нижчі за середньо летальну дозу (LD50 = 1120 мг/кг).
6. Аркаїн, а також ліганди, що мають «дуже швидку» кінетику взаємодії з канальними сайтами NMDA-Rs (ІЕМ 1490, ІЕМ 1460, ІЕМ 1592), на відміну від мемантину не виявляють антидепресантних властивостей на моделях примусового плавання та резерпінової депресії (Р>0,05), проте демонструють продепресивну активність, збільшуючи сумарний час іммобілізації під час примусового плавання (ІЕМ 1490 на 53,5%, ІЕМ 1592 на 75,1% та ІЕМ 1460 на 64,7%, Р<0,05).
7. Антидепресивні ефекти негативних модуляторів гліцин-зв’язуючих сайтів NMDA-рецепторів (сполуки ТСВ) реалізуються незалежно від функціонального стану моноамінергічної та ГАМК-ергічної нейромедіаторних систем, що дає підстави очікувати більш швидкий клінічний ефект цих сполук та більшу терапевтичну ефективність.

**ПЕРЕЛІК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Кидин Ю.В. Тиенопиримидиновые производные монокарбоновых аминокислот как антагонисты N-метил-D-аспартата и их антидепрессантоподобные эффекты / И.В. Комиссаров, И.И. Абрамец,
Л.Я. Зиньковская, Ю.В. Кидин, Ю.В. Кузнецов, О.Г. Образцова, С.В. Толкунов // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2004. – Т.13, №1-2. – С.11-15. (Внесок здобувача: виконання експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація даних, підготовка матеріалів до друку).

2. Кидин Ю.В. Влияние поведенческой депрессии и хронического воздействия антидепрессантов на опосредуемые НМДА-глутаматными рецепторами ответы нейронов зубчатой извилины крыс / И.И. Абрамец,
Ю.В. Кидин, Ю.В. Кузнецов, А.Н. Талалаенко // Нейрофизиология. – 2005. – Т.37, №2. – С.124-133. (Внесок здобувача: виконання експериментальних досліджень, підготовка матеріалів до друку).

3. Кидин Ю.В. Роль моноаминергического компонента в антидепрессивном эффекте неконкурентых антагонистов N-метил-D-аспартата / И.В. Комиссаров, Ю.В. Кидин // Журнал АМН України. – 2005. – Т.11, №3. – С.583-591. (Внесок здобувача: виконання експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація даних, підготовка матеріалів до друку).

4. Кидин Ю.В. Корреляция антидепрессивной и анксиолитической активности алостерических модуляторов NMDA-рецепторов в поведенческих моделях у крыс / И.А. Гладыш, Ю.В. Кидин, И.В. Комиссаров, В.Н. Тихонов // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2006. – Т.15, №1. – С.21-25. (Внесок здобувача: виконання експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація даних).

5. Кидин Ю.В. Отсутствие антидепрессантоподобной активности лигандов полиамин-связывающих участков NMDA-рецепторов на моделях депрессии / Л.Я. Зиньковская, Ю.В. Кидин, И.В. Комиссаров, О.Г. Образцова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т.69, №1. – С.3-5. (Внесок здобувача: виконання експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація даних, підготовка матеріалів до друку).

6. Кідін Ю.В. Залучення ГАМК- та опіоїдергічної систем в антидепресантоподібні ефекти неконкурентних антагоністів NMDA-рецепторів / Ю.В. Кідін // Ліки. – 2007. – №5-6. – С. 12-16

7. Пат. № 9830 Україна, МПК 7 А61К31/215. Тієнопіримідинові похідні монокарбонових амінокислот, що мають властивості антагоністів N-метил-D-аспартату та антидепресантів / Комісаров Ігор Васильович, Абрамець Ігор Ігорович, Кідін Юрій Валерійович, Толкунов Сергій Володимирович, Образцова Ольга Георгіївна. Заявл. 07.04.2005; Опубл.17.10.2005, Бюл.№10

8. Кидин Ю.В. Изучение влияния лигандов полиамин- и глицин-связывающих сайтов на поведение белых крыс в тесте Порсолта /
Ю.В. Кидин // Тези II науково-практичної конференції молодих вчених та спеціалістів «Актуальні проблеми фармакології та токсикології», 22 грудня 2005р. Київ: тези. – Київ: Архетип, 2005. – С.27.

9. Кідін Ю.В. NR2A суб’єдиниця NMDA-рецепторів глутамату як можлива фармакологічна мішень антидепресивної дії тієнопіримідинових похідних монокарбонових амінокислот / Ю.В. Кідін // Тези за матеріалами науково-практичної конференції молодих вчених «Актуальні питання медицини і фармації, Запоріжжя, 7 жовтня 2008: тези. – Запоріжжя, 2008. – С.18-19.

10. Кидин Ю.В. Устранение антидепрессантоподобных эффектов неконкурентных антагонистов NMDA блокатором опиатных рецепторов / Ю.В. Кидин // Тези за матеріалами 71-ї міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених «Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини, стоматології, фармації, Донецк, 23-24 квітня 2009: тези. – Донецьк, 2009. – С.239

11. Кідін Ю.В. Порівняльна антидепресантна активність неконкурентних антагоністів різних сайтів NMDA-рецепторів / Ю.В. Кідін // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – №1(8). – С.9-12.

**Анотація**

**Кідін Ю.В. Антидепресантна активність неконкурентних блокаторів NМDА-рецепторів глутамату та механізм їх дії.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України», Київ, 2009.

Дисертацію присвячено виявленню та вивченню антидепресивних ефектів негативних модуляторів NMDA-глутаматних рецепторів, що належать до різних класів неконкурентних антагоністів N-метил-D-аспартату. Тієнопіримідинові похідні монокарбонових амінокислот в умовах in vitro демонструють властивості антагоністів NMDA. Антидепресантну активність було виявлено у тієнопіримідинових похідних проліну (ТСВ 24.15, ТСВ 24.85) та гліцину (ТСВ 31.54), які знижували сумарний час іммобілізації та індекс депресивності в тесті Порсолта, та протидіяли ефектам резерпіну на моделі резерпінової депресії. Антидепресивні ефекти сполук серії ТСВ пов’язані зі здатністю їх блокувати гліцин-зв’язуючі сайти NMDA-рецепторів глутамату. Такі ж ефекти були виявлені у блокатора відкритих кальцієвих каналів мемантину, проте як позитивні, так і негативні модулятори поліамін-зв’язуючих сайтів не спричиняли антидепресивних ефектів ані в тесті Порсолта, ані в моделі резерпінової депресії. Антидепресивні ефекти негативних модуляторів гліцин-зв’язуючих сайтів (ТСВ 31.54 і ТСВ 24.85) та блокаторів кальцієвих каналів (мемантин) не залежать від функціонального стану моноамінергічної та ГАМК-ергічної систем, що дозволяє припускати можливість швидшого початку клінічних ефектів та меншу терапевтичну резистентність в порівняні з антидепресантами, що використовуються зараз.

**Ключові слова:** антидепресанти, тієнопіримідинові похідні монокарбонових амінокислот, тест Порсолта, резерпінова депресія, неконкурентні антагоністи NMDA, глутаматні рецептори.

**Аннотация**

**Кидин Ю.В. Антидепрессантная активность неконкурентных блокаторов NМDА-рецепторов глутамата и механизм их действия.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – ГУ «Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины», Киев, 2009.

Диссертационная работа посвящена выявлению антидепрессантной активности у веществ, относящихся к разным классам неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторов глутамата и изучению особенностей механизма антидепрессивного действия соединений, для которых таковое действие было выявлено.

В условиях in vitro была показана способность тиенопиримидиновых производных монокарбоновых аминокислот (соединения серии ТСВ) противодействовать N-метил-D-аспартату. Наибольшую активность в электрофизиологических исследованиях демонстрируют тиенопиримидиновые производные пролина (ТСВ 24.85 и ТСВ 24.15, IC50 составляет 2,50±0,20 и 2,75±0,47, соответственно), лейцина (ТСВ 22.62, IC50 = 5,25±1,10) и глицина (ТСВ 31.54, IC50 = 6,05±0,50).

Скрининг на антидепрессивную активность производился на модели неизбегаемого плавания (тест Порсолта) среди активных in vitro тиенопиримидиновых производных монокарбоновых аминокислот (ТСВ 24.15, ТСВ 24.85, ТСВ 31.54, ТСВ 22.85, ТСВ 22.62. ТСВ 30.47), блокаторов катионного канала NMDA-рецепторов глутамата (мемантин, мидинтан), позитивных и негативных модуляторов полиамин-связывающих сайтов (спермин, аркаин, соединения серии ИЭМ). В тесте Порсолта регистрировали суммарное время иммобилизации (СВИ), число периодов иммобилизаций (ЧПИ), и индекс депрессивности (ИД). Последний вычисляли путем деления количества периодов коротких иммобилизаций на количество периодов активного плавания. Об антидепрессантной (имипраминоподобной) активности исследуемых веществ говорили при достоверном снижении одного или нескольких из регистрируемых показателей у животных, получавших исследуемое вещество, по сравнению с контрольной группой животных, получавших растворитель. Имипраминоподобная активность достоверно определялась после введения тиенопиримидиновых производных глицина (ТСВ 31.54) и пролина (ТСВ 24.15 и ТСВ 24.85) в дозе 10 мг/кг, причем она достоверно устранялась предварительным введением глицина (р-р глицина 50 мг/кг за 30 мин до р-ра ТСВ 31.54 10 мг/кг), либо при трехкратном увеличении дозы вводимого вещества (ТСВ 24.15, 30 мг/кг). Последнее дает основания полагать, что тиенопиримидиновые производные пролина и глицина оказывают антидепрессантоподобные свойства за счет антагонизма к глицин-связывающему сайту NMDA-рецепторов глутамата. Антидепрессивная активность была так же выявлена у блокатора катионного канала NMDA-рецепторов мемантина, но она отсутствовала у позитивных и негативных модуляторов полиаминсвязывающих сайтов, что может быть объяснено критической ролью NR2A субъединицы NMDA-рецепторов в антидепрессивных и анксиолитических эффектах антагонистов NMDA, в то время как центр связывания полиаминов локализован в NR2B субъединице. Глицин-связывающий сайт локализован в NR1 субъединице, которая является неотъемлемой структурной и функциональной частью всех подтипов NMDA-рецептурного комплекса (включая и NR1/NR2A подтип). Поэтому блокада глицин-связывающих сайтов NMDA рецепторов соединениями серии ТСВ способна вызывать антидепрессантоподобные эффекты.

Антидепрессивные эффекты ТСВ 31.54, ТСВ 24.85 и мемантина не потенцируются предварительным введением имипрамина в тесте Порсолта. Они воспроизводятся в условиях резерпиновой депрессии, а совместное введение этих веществ с фенамином, не пролгонгирует вызываемое фенаминоном состояние стереотипного поведения. Все это свидетельствует о самодостаточности неконкурентных блокаторов NMDA-рецепторов глутамата как веществ, вызывающих антидепрессивные эффекты. Поскольку как терапевтический эффект, так и клинические недостатки (латентный период 2-4 недели, резистентность до 30%) применяемых антидепрессантов связаны с адаптивными изменениями в моноаминергической передаче, то можно ожидать, что неконкурентные антагонисты NMDA будут лишены вышеназванных недостатков.

Было так же показано, что уменьшение ГАМК-ергической передачи, за счет введения неконкурентного антагониста ГАМКа-рецепторов (пикротоксин) в субсудорожной дозе (1,25 мг/кг) ведет к антидепрессивным эффектам в тесте Порсолта, однако их совместное введение с ТСВ 31.54 не приводит к взаимному усилению, либо ослаблению антидепрессивных эффектов, что свидетельствует о малой роли ГАМК-ергической передачи в антидепрессивных эффектах ТСВ 31.54. Этого же нельзя сказать об опиатной системе мозга. Так, введение налоксона в эффективной дозе 8 мг/кг, не оказывает значительного влияния на поведение крыс во время принудительного плавания. Однако его введение совместно с ТСВ 31.54 привело к устранению антидепрессивных эффектов последнего. Полученные результаты, вероятно, являются следствием блокады налоксоном пресинаптических µ-опиатных рецепторов на глутаматергических терминалях, что ведет к усилению квантового высвобождения глутамата, и активации большего числа NMDA-рецепторов.

**Ключевые слова:** антидепрессанты, тиенопиримидиновые производные монокарбоновых аминокислот, тест Порсолта, резерпиновая депрессия, неконкурентные антагонисты NMDA, глутаматные рецепторы.

**Summary**

**Kidin I.V. Antidepressant-like activity of non-competitive antagonists N-methyl-D-aspartate and their mechanism of action.** – Manuscript.

Dissertation on the receipt of scientific degree of candidate of medical sciences on speciality 14.03.05 – pharmacology. – Public institution is “Institution of pharmacology and toxicology of AMS of Ukraine”, Kyiv, 2009.

The dissertation is devoted to find out the most active substances in the line of tienopirimidine derivatives of monocarbonic acids (compounds TSV), and study of their antidepressant-like properties in conditionals of experimental depression. In additional two more classes of noncompetitive NMDA antagonists were investigated: calcium channels blockers (memantin, midantan) and polyamine binding sites modulators (spermine, arkaine, and IEMs compounds). Tienopirimidine derivatives of proline (TSV 24.15, TSV 24.85) and glycine (TSV 31.54) shows antidepressant-like action in forced swimming test (anti-immobility effects) and in depression that caused by reserpin injection. These effects TSV compounds probably realize by negative modulation of glycine binding sites of NMDA-receptors. Same antidepressant-like action has calcium channel blocker (memantine). Polyamine binding sites modulators do not have any antidepressant-like activity in same experimental models of depression. It was shown that neither monoaminergic neither GABA systems do not plays any significant role in antidepressant action of non-competitive NMDA antagonists. However, opiate receptors blockage by naloxone can reverse anti-immobility effects of TSV 31.54, thoughts by presynaptic action on glutamate terminals.

**Key words:** antidepressants, tienopirimidine derivatives of monocarbonic acids (compounds TSV), forced swimming test, depression due to reserpine injection, non-competitive NMDA antagonists, glutamate receptors.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>