

Качественные и количественные особенности взаимодействия пантогама и пантогама актив с рецепторами нейромедиаторов *in vitro*

Г.И. КОВАЛЁВ^{1*}, Ю.Ю. ФИРСТОВА¹, Д.А. АБАИМОВ¹, Н.А. СТАРИКОВА²

Pantogam and pantogam active: qualitative and quantitative features of the interaction with neurotransmitter receptors *in vitro*

G.I. KOVALEV, Yu.Yu. FIRSTOVA, D.A. ABAIMOV, N.A. STARIKOVA

¹НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН; ²ООО «ПИК-ФАРМА», Москва

Проведено сравнительное исследование действующих веществ препаратов пантогам и пантогам актив (кальциевых солей D(R)-гомопантотеновой кислоты и DL(RS)-гомопантотеновой кислоты), а также ее L(S)-изомера на рецепторы основных нейромедиаторов мозга крыс в условиях радиолигандного анализа *in vitro*. Установлено, что все 3 вещества взаимодействуют с местами связывания специфических лигандов ГАМК-А и, в особенности, ГАМК-В рецепторов. Кроме того, рацемат и S-энантиомер (но не R-форма) в умеренной степени конкурировали за места связывания D₂-рецептора дофамина. Во всех случаях степени взаимодействия с рецепторами вещества располагались в следующей последовательности: S-изомер>рацемат>R-изомер. Предполагено, что обнаруженные качественные и количественные различия вносят вклад в особенности фармакологической активности обоих препаратов.

Ключевые слова: пантогам, пантогам актив, энантиомеры, рецепторы, ГАМК, NMDA, дофамин, серотонин, ацетилхолин, бензодиазепин.

We conducted a comparative study on the effect of active compounds of pantogam and pantogam active (calcium D(R)-homopantothenate and calcium DL(RS)-homopantothenate) and its L(S)-isomer on the receptors of main brain neuromediators in rats using *in vitro* radioligand binding analysis. All three compounds interact with binding sites of specific GABA-A and, in particular, GABA-B receptor ligands. Racemate and S-enantiomer, but not its R-form, competed to a moderate degree for D₂-receptor binding sites. In all cases, degrees of interaction with receptors were ranged as follows: S-isomer>racemate>R-isomer. These qualitative and quantitative differences are assumed to contribute to pharmacological activity of both drugs.

Key words: pantogam, pantogam active, enantiomers, receptors, GABA, NMDA, dopamine, serotonin, acetylcholine, benzodiazepine.

Пантогам используется в психоневрологической клинике уже более 30 лет. Препарат является кальциевой солью (R)D-изомера гомопантотеновой кислоты (ГПК). Действие пантогама связывают с наличием в его структуре гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), введенной в молекулу D-пантотеновой кислоты (витамина В₅) вместо фрагмента бета-аланина с целью улучшения ее прохождения через биологические мембраны в мозг. Эта замена привела, с одной стороны, к потере молекулой витаминных свойств, а с другой стороны, к появлению психотропной активности, которую исследователи связывают именно с наличием ГАМК-фрагмента [4] (рис. 1).

Отечественный препарат пантогам актив зарегистрирован в 2008 г. в качестве ноотропного средства [2]. Пантогам актив (рац-гопантотеновая кислота, D,L-гопантотеновая кислота) представляет собой рацемическую модификацию пантогама. Рацемат — это смесь равных количеств двух стереоизомеров (энантиомеров) одного и того же вещества, обозначаемых как R и S (или D и L). Свойство молекулы иметь стереоизомеры называется хиральностью

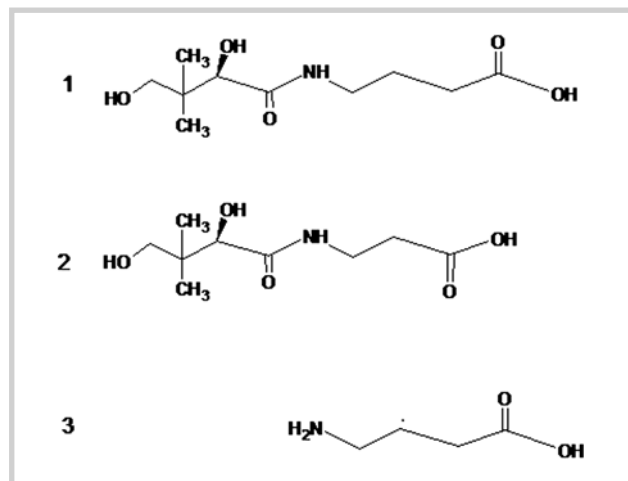


Рис. 1. Химическая структура.

1 — D-гомопантотеновой кислоты; 2 — D-пантотеновой кислоты; 3 — гамма-аминомасляной кислоты.

(от греч. *cheir* — рука). Наряду с конфигурацией и конформацией хиральность — основное понятие современной стереохимии.

Биологическая (фармакологическая) активность лекарств определяется их связыванием с так называемыми мишенями — в первую очередь, с активными центрами ферментов, рецепторов и транспортных систем для нейромедиаторов и гормонов, играющих роль регуляторов физиологической активности клеток и тканей. Эта фиксация («связывание с рецептором», *receptor binding*) представляет собой стереоспецифичный процесс, что предполагает вероятность существенных различий в действии R- и S-энантиомеров молекул лекарственных веществ. О фармакокинетических и фармакодинамических различиях в эффектах энантиомеров хиральных веществ известно много лет, при этом в фармакотерапевтической практике в большинстве случаев продолжают преобладать рацемические формы лекарственных препаратов. Вместе с тем для многих препаратов профиль фармакологической активности изомеров может как количественно, так и качественно отличаться от эффекта рацемата [9, 11, 12].

Поэтому целью настоящей работы стало изучение в экспериментах *in vitro* влияния рацемата (D,L-ГПК), D- и L-изомеров ГПК на рецепторы основных нейромедиаторных систем мозга.

Материал и методы

Исследования проводили на препаратах мембран коры больших полушарий, гиппокампа и стриатума мозга крыс, выделенных и подготовленных для анализа по отдельным методикам, подробно описанным ранее [8]. Взаимодействие с дофаминовыми (D₁, D₂ и D₃), ГАМК (-A, -B и бензодиазепиновыми), глутаматными (NMDA-канальный сайт), серотониновыми (5-HT₂) и н-ацетилхолиновыми рецепторами оценивали методом радиолигандного связывания с использованием меченных тритием изотопов — специфических лигандов упомянутых типов рецепторов (см. таблицу).

Меченые соединения были синтезированы Ю.А. Золотарёвым в отделе химии физиологически активных веществ НИИ молекулярной генетики РАН. Образцы рацемата и энантиомеров ГПК были предоставлены компанией «ПИК-ФАРМА». Их использовали в широком диапазоне концентраций — от 0,1 нмоль/л до 1,0 ммоль/л.

Для статистической обработки данных использовали программу GraphPad Prizm 5 Demo (<http://www.graphpad.com>). Результаты представлены в виде среднего арифметического \pm стандартной ошибки ($M \pm m$). Для выявления достоверности различий применяли F-критерий Фишера.

Результаты

Кривые вытеснения меченых лигандов D₁- и D₂-дофаминовых, ГАМК-A- и ГАМК-B-рецепторов представлены на рис. 2. Видно, что зависимости «концентрация—эффект» для специфических агонистов (см. таблицу) указанных рецепторов описываются сигмовидными кривыми, характерными для связывания с высоким сродством к рецепторам. Влияние же рацемата и изомеров ГПК разнородно. Так, ни одно из трех веществ не взаимодействует с D1-типом дофаминового рецептора (см. рис. 2, А), тогда как за места связывания на D2-рецепторах умеренная конкуренция наблюдается для L-изомера и рацемата (см. рис. 2, Б).

За ГАМК-A рецепторы (см. рис. 2, В) и ГАМК-B рецепторы (см. рис. 2, Г) значительную конкуренцию обнаруживают все 3 соединения, но в разной степени: в обоих случаях наиболее активной является L-форма ГПК, а наименее активной — D-форма. В пределах исследованных концентраций влияния на другие рецепторы не отмечалось, поэтому на рисунках эти результаты не представлены.

По данным анализа кривых вытеснения были рассчитаны величины концентрации каждого из трех веществ, изменяющей эффективность специфического связывания радиоактивных лигандов на 50% относительно контроля — IC₅₀ (см. таблицу). Полученные величины IC₅₀ свидетельствуют о том, что ни одно из изученных веществ не имеет структурного сродства к бензодиазепиновым сайтам ГАМК-рецепторного комплекса и серотониновым рецепторам 5-HT₂-типа в лобной коре, D₁- и D₃-типам дофаминовых рецепторов в стриатуме, внутриканальному сайту NMDA-рецептора в гиппокампе и никотиновым рецепторам коры мозга у крыс. Умеренная степень сродства обнаруживается для дофаминовых рецепторов D₂-типа: здесь действующее вещество пантогама актив D,L-ГПК ингибирует специфическое связывание с рецептором с IC₅₀=229 мкМ, L-изомер представляется самым активным с IC₅₀=56 мкМ, а пантогам оказывается инертным вплоть до максимальной концентрации 1 мМ. Таким образом,

Величины IC₅₀ для хиральных изомеров и рацемической формы гомопантотеновой кислоты (ГПК)

Рецептор	Специфический лиганд	Структура мозга	IC ₅₀		
			D-ГПК, мкМ	L-ГПК, мкМ	Рац-ГПК, мкМ
ГАМК-A	[³ H]-SR95531	Лобная кора	63±7	22±3*	37±5*
ГАМК-B	[³ H-G](-)баклофен	Лобная кора	9,9±0,5	3,2±0,1*	4,6±0,1*
Бензодиазепиновый	[³ H-G]-флунитразепам	Лобная кора	>1000	>1000	>1000
D ₁	[³ H-G]-SKF38393	Стриатум	>1000	>1000	>1000
D ₂	[³ H-G](-)сульпирид	Стриатум	>1000	56,1±6,0**	229±16*
D ₃	[³ H-G](+)7ОН-DPAT	Стриатум	>1000	>1000	>1000
5-HT ₂	[³ H-G]-кетансерин	Лобная кора	>1000	>1000	>1000
NMDA	[³ H-G]-МК-801	Гиппокамп	>1000	>1000	>1000
н-ацетилхолиновый	[³ H-G](-)никотин	Целая кора	>1000	>1000	>1000

Примечания. *— статистически значимое отличие L-изомера и рацемата от D-изомера, $p=0,004$; **— статистически значимое отличие L-изомера от D-изомера, $p=0,02$.

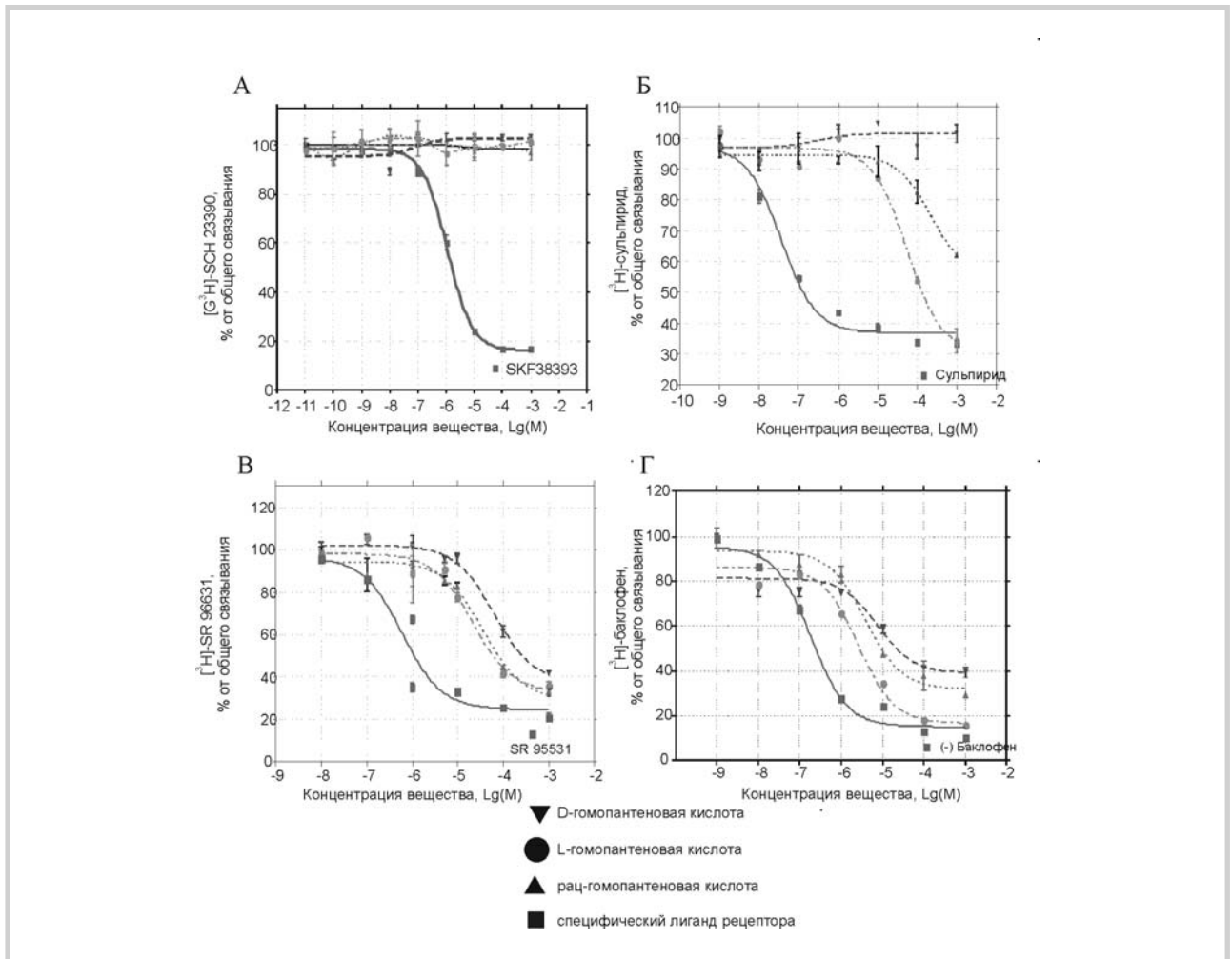


Рис. 2. Влияние D-гомопантеновой кислоты, L-гомопантеновой кислоты и рац-гомопантеновой кислоты на связывание с дофаминовыми и ГАМК-рецепторами мозга крыс *in vitro*.

A — D₁-рецептор; Б — D₂-рецептор; В — ГАМК-А-рецептор; Г — ГАМК-Б-рецептор.

По оси абсцисс — концентрация вещества (M), по оси ординат — % от общего связывания.

различие между эффектами пантогама актив и пантогама приобретают качественный характер.

Большая степень средства продемонстрирована в отношении ГАМК-А рецепторов. В этом случае вещества располагаются по степени возрастания активности в следующей последовательности: D-изомер < рацемат < L-изомер. Но наиболее эффективным представляется взаимодействие ГПК с ГАМК-В-рецепторами, поскольку значения концентраций полуингибирования IC₅₀ характеризуются величинами, меньшими аналогичных для ГАМК-А-рецепторов в 6—7 раз: 9,9, 4,6 и 3,2 мкМ против 63, 37 и 22 мкМ для всех форм ГПК соответственно (см. таблицу). Следовательно, различия в ГАМК-рецепторных компонентах механизма действия пантогама и пантогама актив имеют количественный характер.

Обсуждение

Известно, что фармакологическая активность рацемических препаратов может существенно отличаться от эффектов энантиомеров. Различия в фармакокинетике

способны проявиться на каждой из принципиальных стадий пребывания препарата в организме — при взаимодействии с белками плазмы, всасывании, распределении в тканях и элиминации. Так, атенолол имеет схожие профили в плазме крови для S- и R-энантиомеров, а пропранолол и верапамил показывают отличные, но параллельные характеристики для S- и R-форм. Энантиомеры варфарина демонстрируют противоположные и отличающиеся эффекты, а активность их комбинации проявляется почти посередине [4, 6].

В фармакодинамике складывается близкая ситуация [6, 7]: L-дофа (L-диоксифенилаланин), используемый в неврологической практике, обладает единственным хиральным центром. Серьезные нежелательные эффекты индуцируются именно L-дофа, обладающим минимальной противопаркинсонической активностью. Было показано, что различная активность как в фармакологических тестах, так и в радиорецепторном исследовании *in vitro*, проявляется при сравнительном анализе энантиомеров другого препарата, относящегося к группе ГАМКергических — фенибута [10]. В частности, S-фенибут оказался

полностью пассивным по влиянию на локомоторную, антидепрессивную и противоболевую активность вплоть до дозы 500 мг/кг. R-форма препарата, напротив, была вдвое активнее рацемической при исследовании по всем использованным методикам, а антагонист ГАМК-В-рецепторов CGP35348 противодействовал R-изомеру в тесте Порсолта на обнаружение антидепрессантной активности. По радиорецепторным характеристикам в отношении ГАМК-В-рецепторов вещества распределились в следующей последовательности по убыванию активности: баклофен > R-изомер > рацемат >>> S-изомер.

Обратная последовательность оказывается характерной для величин EC_{50} (величин концентрации лиганда, вызывающего эффект, равняющейся половине максимального возможного для данного лиганда) энантиомеров и рацемата тиопентала по влиянию на ГАМК-А-рецепторы: 26, 36 и 53 мкмоль/л у S-, Rac- и R-формы соответственно. Таким образом, для тиопентала ряд выглядит как $S > Rac > R$, что совпадает с эффектами *in vivo*. В отношении рецепторов глутамата и никотиновых рецепторов стереоселективность образцов препарата была минимальной, из чего следовало, что не эти рецепторы несут ответственность за барбитуровую анестезию [9].

Некоторые количественные и качественные различия в спектрах фармакологической активности препаратов пантогам и пантогам актив были выявлены в экспериментах, проведенных в лаборатории психофармакологии НИИ фармакологии имени В.В. Зукосова РАМН Т.А. Ворониной [1]. В экспериментах на крысах эффективность пантогама актив по влиянию на обучаемость в тесте условной реакции пассивного избегания, на амнезию, вызванную максимальным электрошоком, а также в тесте экстраполяционного избегания превосходит таковую пантогама в 2—3 раза.

В еще большей степени пантогам актив проявляет себя в сравнении с пантогамом по противосудорожной активности, в особенности на моделях коразоловых и бикукуллиновых судорог, механизм генерации которых связан именно с ГАМК-рецепторами.

Следовательно, сопоставляя все представленные результаты, можно отметить, что большая эффективность рацемической формы обусловлена присутствием в ней 50% L(S)-изомера, тем более, что активность 100% L(S)-изомера превосходит рецепторные эффекты рацемата в 2—2,5 раза. Интересно, что обратная предпочтительность отмечена в действии S- и R-энантиомеров на фермент пантотенаткиназу в митохондриях мышей: здесь (S)-ГМК оставалась неактивной, тогда как (R)-энантиомер проявлял конкурентный ингибирующий эффект с IC_{50} в пределах 50—150 мкМ, проявляя свойства антиметаболита пантотеновой кислоты [13].

Таким образом, в механизмах действия пантогама и пантогама актив благодаря различному содержанию D(R)- и L(S)-изомеров ГПК по-разному проявляются рецепторный и метаболический компоненты, что может отражаться в различной фармакологической активности обоих препаратов.

Результаты клинических исследований пантогама и пантогама актив также говорят об отличиях в клиническом действии данных препаратов. В сравнительном исследовании Л.С. Канаевой и соавт. [2] показано, что в спектре психофармакологической активности пантогама актив и пантогама актив выявлены антиастенический, активизи-

рующий, ноотропный и вегетотропный эффекты. Выраженность антиастенического, активизирующего и вегетотропного эффектов у пантогама актив и пантогама сопоставима, в то время как интенсивность ноотропного действия пантогама актив превосходит таковую у препарата пантогам. Оба препарата демонстрируют ранний ответ на терапию (к 14-му дню приема), отражающийся в улучшении показателей всех составляющих компонентов астенического симптомокомплекса. Оба препарата демонстрируют высокую эффективность при терапии астенических расстройств различного генеза с некоторым преимуществом действия пантогама актив при органической астении, а пантогама — при психогенной. Пантогам актив и пантогам повышают уровень социальной адаптации больных, влияя на сферу работоспособности и ежедневного функционирования, улучшают межличностные связи, повышают мотивацию пациентов.

Нехарактерные для классических ноотропов анксиолитическое и противодепрессивное свойства пантогама актив показаны в нескольких клинических работах. По данным исследования В.Э. Медведова и А.В. Епифанова [5], посвященного лечению невротических, связанных со стрессом и соматоформных расстройств у пациентов с гипертонической болезнью, на фоне приема пантогама актив отмечена редукция психопатологической симптоматики у пациентов с астеническими, тревожно-депрессивными расстройствами и расстройствами приспособительных реакций. Аналогичные данные были получены И.Е. Поверенновой и соавт. [7] у больных парциальной эпилепсией при назначении пантогама актив в качестве дополнительной терапии. Пантогам актив показал свою эффективность в отношении влияния на частоту и тяжесть эпилептических припадков, при оценке долговременной памяти, а также продемонстрировал выраженный анксиолитический эффект, который проявлялся у пациентов с повышенным уровнем тревоги.

В исследовании А.И. Пальцева и соавт. [6] эффективность пантогама актив у ветеранов боевых действий с хроническим болевым синдромом и посттравматическим стрессовым расстройством выражалась в его положительном влиянии на состояние памяти, уменьшении уровня тревожности и снижении эмоциональных проблем в повседневной жизнедеятельности.

В работе Е.А. Катунинной и соавт. [3] при изучении эффективности пантогама актив у пациентов с дистоническими гиперкинезами лица и шеи авторами отмечено 2 типа эффектов: первый, наиболее быстрый эффект (к концу 2-й нед) реализуется в виде редукции психопатологической симптоматики, снижения уровня тревожности, раздражительности, улучшения сна и сохраняется на всем протяжении приема препарата; второй наблюдался в среднем через 2—2,5 мес от начала терапии пантогамом актив в дополнение к базисной терапии и выражался в уменьшении тяжести дистонических гиперкинезов. Наилучший эффект отмечался у больных с небольшой продолжительностью заболевания. У ряда других пациентов назначение пантогама актив позволило увеличить дозу препаратов, традиционно применяющихся для лечения дистоний (клоназепам, циклодолол, тиапридала, баклофена) за счет снижения выраженности таких часто развивающихся побочных эффектов, вызываемых этими препаратами, как слабость, сонливость, снижение концентрации внимания, головокружение, сухость во рту.

Таким образом, данные доклинических и клинических исследований подтверждают необходимость продол-

жения поиска и изучения дополнительных возможностей уже известных лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Воронина Т.А.* Пантогам и пантогам актив. Фармакологические эффекты и механизм действия. В кн.: Пантогам и пантогам актив. Клиническое применение и фундаментальные исследования. Под ред. В.М. Копелевича. М: Триада-фарм 2009; 11—30.
2. *Канаева Л.С., Вазагаева Т.И., Ястребова В.В., Шагиахметов Ф.Ш.* Эффективность и переносимость пантогама и пантогама актив у больных с астеническими расстройствами. Клиническое применение и фундаментальные исследования. Под ред. В.М. Копелевича. М: Триада-фарм 2009; 104—120.
3. *Катунина Е.А., Мальхина Е.А., Аванесова О.В., Макарова А.А., Абдурахманова Е.К., Гридякин В.И.* Применение пантогама актив в комплексном лечении дистонических гиперкинезов. Журн неврол и психиат 2010; 11: 2: 57—61.
4. *Копелевич В.М.* Пантогам актив — инновационный препарат на основе рацемата гомопантотеновой кислоты с ноотропным, нейропротекторным и противосудорожным действием. В кн.: Пантогам и пантогам актив. Клиническое применение и фундаментальные исследования. Под ред. В.М. Копелевича. М: Триада-фарм 2009; 96—103.
5. *Медведев В.Э., Епифанов А.В.* Терапия невротических, связанных со стрессом и соматоформных расстройств у пациентов с гипертонической болезнью. Рос психиат журн 2011; 1: 55—61.
6. *Пальцев А.И., Торгашов М.Н., Воронова Ю.С., Баяндина Е.В., Луныкина С.Б.* Роль боевого стресса в формировании хронического болевого синдрома у участников боевых действий и его лечение препаратом пантогам актив. Журн неврол и психиат 2010; 9: 43—46.
7. *Повереннова И.Е., Якунина А.В., Калинин В.А., Савельева Н.Н.* Эффективность и переносимость пантогама актив у больных парциальной эпилепсией. Журн неврол и психиат 2011; 2: 54—59.
8. *Фирстова Ю.Ю., Абаимов Д.А., Капица И.Г., Воронина Т.А., Ковалёв Г.И.* Влияние скополамина и ноотропного препарата фенотропила на рецепторы нейромедиаторов мозга крыс в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Нейрохимия 2011; 28: 2: 130—141.
9. *Burke D., Henderson D.J.* Chirality: a blueprint for the future. Br J Anaesth 2002; 88: 563—576.
10. *Dambrova M., Zvejniece L., Liepinsh E. et al.* Comparative pharmacological activity of optical isomers of phenibut. Eur J Pharmacol 2008; 583: 128—134.
11. *Nerurkar Sh., Dighe Sh., Williams R.L.* Bioequivalence of racemic drugs. J Clin Pharmacol 1992; 32: 935—943.
12. *Simonyi M., Fitos I., Visky J.* Chirality of bioactive agents in protein binding storage and transport processes. TIPS 1986; 7: 112—116.
13. *Zhang Y.-M., Chohnan Sh., Virga K.G., Stevens R.D., Likayeva O.R., Wenner B.R., Bain J.R., Newgard Ch.B., Lee R.E., Rock Ch.O., Jackowski S.* Chemical knockout of pantothenate kinase reveals the metabolic and genetic programs responsible for hepatic coenzyme A homeostasis. Chemistry & Biology 2007; 14: 291—302.

Для заметок

Для заметок

Для заметок

Пантогам®

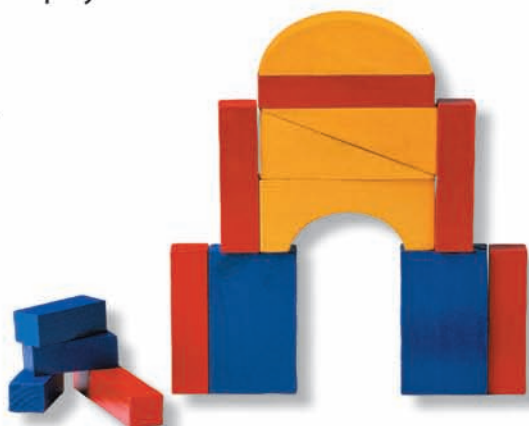
гопантеновая кислота

Пантогам актив®

рац-гопантеновая кислота

- НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ноотропной терапии

- ▲ Активирует умственную деятельность и работоспособность
- ▲ Уменьшает моторную возбудимость
- ▲ Упорядочивает поведение



**АКТИВНАЯ
РАБОТА МЫСЛИ**



РРФ - 001667108, 000339105, 003873108

Реклама