

На правах рукописи

Мариевский Валентин Евгеньевич

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
КОМБИНАЦИИ ФАБОМОТИЗОЛА С ЛАДАСТЕНОМ
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Научный руководитель:

Зайнуллина Лиана Фанзилевна – кандидат биологических наук, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», заведующий лабораторией молекулярной фармакологии, ведущий научный сотрудник

Официальные оппоненты:

Черных Иван Владимирович – доктор биологических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии

Абаимов Денис Александрович – кандидат биологических наук, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский центр неврологии и нейронаук», старший научный сотрудник, руководитель группы фармакокинетики отдела лабораторной диагностики Института клинической и профилактической неврологии

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «28» апреля 2026 года в 13.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.183.02 на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (125315, Москва, Балтийская ул. д. 8).

Отзывы на автореферат направлять по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул. д. 8, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул. д. 8 и на сайте www.academpharm.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2026 года

**Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.183.02:**

кандидат биологических наук



Васильева Екатерина Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой медленно прогрессирующее дегенеративное заболевание, характеризующееся наличием выраженных двигательных проявлений, среди которых можно отметить тремор покоя, ригидность (скованность), замедленность и уменьшение совершаемых движений (брадикинезия), нарушение походки и постуральную неустойчивость (Silva A. B. R. L. et al. // *Ageing research reviews*. 2023. Vol. 84. P. 101834). В зависимости от преобладающей симптоматики выделяют три формы БП: акинетико-ригидную, в которой на первый план выходит гипертонус мышц, со временем приводящий к полной неподвижности; дрожательную, основным симптомом которой является тремор, а также смешанную, при которой патология начинается с тремора рук, затем присоединяется гипокинезия (Rajput A. H. et al. // *Neurology*. 2017. Vol. 89. №. 2. P. 138-143).

Распространенность БП в мире составляет 0,15%, достигая приблизительно 1% среди людей в возрасте старше 60 лет (Tysnes O. B. et al. // *Journal of neural transmission*. 2017. Vol. 124. №. 8. P. 901-905). По данным крупного исследования в популяционно-репрезентативной когорте, прогноз при БП неоднороден: у большинства пациентов развивается деменция или постуральная неустойчивость в течение 10 лет после постановки диагноза, при этом у четверти пациентов сохраняется удовлетворительное состояние. Согласно этому же исследованию, БП указывалась в качестве причины смерти в 20% случаев (Williams-Gray C. H. et al. // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2013. Vol. 84. №. 11. P. 1258-1264). Средний возраст смерти пациентов с БП варьируется от 77 до 82 лет (Fall P. A. et al. // *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2003. Vol. 18. №. 11. P. 1312-1316; Poortvliet P. C. et al. // *Journal of Movement Disorders*. 2020. Vol. 14. №. 1. P. 34). В настоящее время повышение эффективности лечения замедляет прогрессирование заболевания и увеличивает продолжительность жизни пациентов, однако приводит к возрастанию инвалидизации в популяции. По данным эпидемиологических исследований, БП наблюдается во всех этнических группах мира (Simon D. K. // *Clinics in geriatric medicine*. 2020. Vol. 36. №. 1. P. 1-12). В России распространенность БП на 2016 год составляла примерно 48,9–139,9 случая на 10⁵ населения (Таппахов А. А. и др. // *Забайкальский медицинский вестник*. 2016. № 4. С. 151-159), что соответствует 210 тысячам случаев.

В настоящее время не существует консенсуса в научном сообществе касательно этиологии заболевания, поскольку БП является полиэтиологичной и ее развитие обусловлено множеством взаимосвязанных факторов. В качестве примеров подобных факторов можно привести митохондриальную дисфункцию центральной нервной системы (ЦНС) и окислительный стресс, провоцирующий апоптоз нейронов черной субстанции (Morris H. R. et al. // *The Lancet*. 2024. Vol. 403. №. 10423. P. 293-304). Одним из широко исследуемых патогенетических факторов заболевания является белок α -синуклеин, который способен

агрегировать и оказывать нейротоксическое воздействие, а также распространяться по ЦНС (Negi S. et al. // *Neurochemistry international*. 2024. Vol. 177. P. 105760). В основе БП, вероятнее всего, лежит взаимодействие между факторами внешней среды и генетическими мутациями, что способствует развитию нейродегенеративных изменений (Vázquez-Vélez G. E. et al. // *Annual review of neuroscience*. 2021. Vol. 44. №. 1. P. 87-108).

В настоящий момент успешно подобранное лечение БП может замедлить нейродегенеративные процессы и снизить выраженность патологической симптоматики, что позволяет пациентам переходить в стадию ремиссии. Современное медикаментозное лечение направлено на восстановление баланса нейромедиатора дофамина (ДА) в ЦНС, поэтому основными препаратами для лечения БП являются: леводопа и ее аналоги, которые служат основой для выработки ДА; агонисты дофаминовых рецепторов, которые стимулируют рецепторы аналогично природному моноамину и снижают выраженность симптоматических нарушений; ингибиторы моноаминоксидазы-Б, способствующие уменьшению деградации ДА; ингибиторы катехол-О-метилтрансферазы, назначаемые в комбинации с леводопой и увеличивающие биодоступность последней; ингибиторы глутаматных N-метил-D-аспарагиновой кислоты рецепторов и холиноблокаторы, используемые в качестве дополнительных средств терапии (Lee T. K. et al. // *Neuroimmunology and Neuroinflammation*. 2021. Vol. 8. P. 222-244). Однако, несмотря на применение вышеперечисленных средств и симптоматическое улучшение пациентов, БП не излечивается полностью. Кроме того, зачастую медикаментозная терапия БП приводит к побочным эффектам, ухудшающим состояние пациентов (Stoker T. B. et al. // *F1000Research*. 2020. Vol. 9. P. F1000 Faculty Rev-862).

Таким образом, актуальной задачей современной фармакологии является поиск новых противопаркинсонических лекарственных средств (ЛС), одновременно обладающих как выраженным влиянием на устранение нейродегенеративных процессов, так и хорошей переносимостью.

Степень разработанности темы. В ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был разработан лекарственный препарат ладастен, предназначенный для лечения астенических состояний различного происхождения, вызванных психическим стрессом, переутомлением, недосыпанием, различными инфекционными и соматическими заболеваниями.

Основным механизмом действия ладастена является усиление синтеза и высвобождения ДА, показанные в экспериментах на здоровых крысах (Grekhova T.V. et al. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1995. Vol. 119. № 3. P. 294-296; Mikhaylova M. et al. // *Neuropharmacology*. 2007. Vol 53. № 5. P. 601-608). Ладастен обладает способностью усиливать синтез ДА *de novo*, что принципиально отличает его от типичных психостимуляторов, поскольку подобное влияние свидетельствует о «неистошающем» типе действия ладастена (Вахитова Ю. В. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021. Т. 84. №2. С. 34-40).

Для действия ладастена также характерно увеличение активности протеинкиназы А (РКА), протеинкиназы С (РКС), регулируемых внеклеточными сигналами митоген-активируемых протеинкиназ ERK1 и ERK2 (ERK1/2) (Вахитова Ю. В. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. Т. 67. № 2. С. 12-15; Вахитова Ю. В. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. Т. 67. № 3. С. 7-9).

Фабомотизол является селективным небензодиазепиновым анксиолитиком, также разработанным в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Фабомотизол обладает нейропротекторными свойствами, в частности, за счет своей способности к лигандной активации Sigma-1 рецептора (Sigma-1R) в нервных клетках головного мозга (Воронин М. В. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2021. Т. 84. №. 2. С. 15-22). Нейропротекторное влияние препарата опосредуется также его воздействием на фермент хинон-редуктазу 2 (NAD(P)H quinone dehydrogenase 2, NQO2) (Кадников И. А. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 159. №. 1. С. 52-55) и нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) (Середенин С. Б. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. Т. 69. №. 3. С. 3-6). Помимо этого, фабомотизол восстанавливает рецепцию в бензодиазепиновом участке рецептора γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) после тестов «приподнятый крестообразный лабиринт» и «контакт с хищником» (Яркова М. А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011. Т. 74. №. 8. С. 3-7), повышает биоэнергетический потенциал нейронов и оказывает нейропротективное действие, что выражается в восстановлении и защите нервных клеток (Zenina T. A. et al. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2005. Vol. 140. № 2. 194-196). Действие препарата реализуется преимущественно в виде сочетания анксиолитического (противотревожного) и легкого стимулирующего (активирующего) эффектов. Так, фабомотизол уменьшает или устраняет чувство тревоги и другие проявления, возникающие при стрессовых расстройствах (расстройствах адаптации) (Незнамов Г. Г. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2001. Т. 64. №. 2. С. 15-19).

Учитывая большое количество разнообразных биологических мишеней в спектре действия ладастена, участвующих в дофаминергических и антиоксидативных процессах, а также фармакологические мишени фабомотизола, можно предположить синергичное действие при комбинировании данных ЛС, которое будет выражено дофаминпозитивным и нейропротекторным эффектами в условиях нейродегенерации, наблюдаемой при БП.

Цель исследования. Анализ противопаркинсонических эффектов комбинации ладастена с фабомотизолом на экспериментальных моделях паркинсонического синдрома (ПС) *in vivo*.

Задачи исследования:

1. Провести исследование наличия антипаркинсонического действия у субстанции ладастена при пероральном хроническом введении на модели 6-гидроксидофамин(6-ГОДА)-индуцированного ПС у мышей.
2. Провести исследование наличия антипаркинсонического действия у субстанции фабомотизола при пероральном хроническом введении на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей.
3. Провести нейрохимический анализ влияния на дофаминергическую систему головного мозга субстанций ладастена и фабомотизола и их комбинации на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей.
4. Провести подбор оптимального дозового соотношения комбинации субстанций ладастена и фабомотизола на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей.
5. Провести исследование наличия антипаркинсонического действия комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом при пероральном остром введении на модели 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин(МФТП)-индуцированного ПС у мышей.
6. Провести исследование наличия антипаркинсонического действия комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом при пероральном хроническом введении на модели паракват-индуцированного ПС у мышей.

Научная новизна. Впервые установлено антипаркинсоническое действие субстанции ладастена при пероральном введении на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей. Впервые установлено антипаркинсоническое действие субстанции фабомотизола при пероральном введении на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей. Впервые установлено антипаркинсоническое действие комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом на моделях 6-ГОДА-, МФТП- и паракват-индуцированных ПС у мышей и фармакологически обосновано применение данной комбинации по сравнению с монотерапией ладастеном или фабомотизолом.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты работы позволили установить наличие антипаркинсонического действия комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом на 6-ГОДА-, МФТП- и паракват-индуцированных моделях ПС. Были подобраны оптимальные дозы субстанций: наиболее эффективно антипаркинсоническое действие проявляется при совместном введении ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг. При этом на 6-ГОДА-, МФТП- и паракват-индуцированных моделях ПС действие комбинации было сопоставимо с эффектами леводопы. Таким образом, обнаруженное антипаркинсоническое действие комбинации ладастена с фабомотизолом, сочетающее в механизме действия дофаминопозитивный и нейропротекторный эффекты, определяет ее терапевтическую перспективность.

Методология и методы исследования. В работе использовались три модели ПС, вызванного различными нейротоксинами: 6-ГОДА, МФТП и паракватом. Для оценки наличия антипаркинсонического действия комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом в зависимости от используемой модели проводились поведенческие тесты «вращающийся стержень», «вертикальный стержень», «цилиндр», «длина шага», а также регистрировался тремор и осуществлялся нейрохимический анализ дофаминергической системы головного мозга.

Положения, выносимые на защиту:

1. Антипаркинсоническое действие субстанции ладастена при пероральном введении на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС.
2. Антипаркинсоническое действие субстанции фабомотизола при пероральном введении на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС.
3. Нейрохимический анализ влияния на дофаминергическую систему головного мозга субстанций ладастена и фабомотизола и их комбинации на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей.
4. Подбор наиболее оптимальных дозовых соотношений субстанций в составе комбинации ладастена с фабомотизолом при изучении ее антипаркинсонического действия на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС.
5. Антипаркинсоническое действие комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом на модели МФТП-индуцированного ПС.
6. Антипаркинсоническое действие комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного ПС.

Степень достоверности. Работа выполнена на репрезентативной выборке с использованием корректных методических подходов. Для статистического анализа данных были применены соответствующие методы математической статистики и современное программное обеспечение. Выводы исследования основаны на собственных экспериментальных результатах и анализе литературных источников.

Апробация результатов. Материалы диссертационной работы были представлены на 34-м Конгрессе международного колледжа нейрпсихофармакологии (Монреаль, Канада, 2023), 2-й Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина (Рязань, 2023), Академическом форуме молодых ученых «Большая Евразия. Континент науки» (Москва, 2023), VI Съезде фармакологов России (Клязьма, 2023), 27-й Международной школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2024), XX Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2024), III Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, 2024), IX Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии,

фармацевтики и фармакологии» (Сыктывкар, 2024), 28-й Международной школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2025).

Личный вклад автора состоит в разработке дизайна диссертационного исследования, проведении всех экспериментов, анализе и обработке полученных результатов, анализе источников литературы, написании статей и тезисов, представлении результатов на российских и международных конференциях.

Публикации по теме работы. По материалам диссертации опубликовано 14 работ, из них 5 статей в рецензируемых изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, и 9 тезисов докладов в материалах научных съездов и конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 193 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, главы, содержащей собственные результаты и их обсуждение, заключения, выводов, описания перспектив дальнейшей разработки темы и списка литературы. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 37 рисунками. Список литературы содержит 244 источника, в том числе 36 отечественных и 208 зарубежных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Используемые субстанции и реактивы. Ладастен (N-(2-адамантил)-N-(2-парабромфенил)амин), фабомотизол (5-этоксипиперидин-2-илметилтио)бензимидазола дигидрохлорида), леводопа (3-гидрокси-L-тирозин), пентобарбитал натрия (этамилал натрия), 6-гидроксидофамина (6-ГОДА) гидрохлорид, паракват (1,1'-диметил-4,4'-дипиридилия дихлорид), 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП), аскорбиновая кислота, физиологический раствор NaCl 0,9%, твин-80, HClO₄, сахароза, H₃PO₄, KН₂PO₄, лимонная кислота, динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА-Na₂), октансульфоновая кислота, ацетонитрил. Хроматографические стандарты: 3,4-дигидроксифениламин, дофамин (ДА), 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота (ДОФУК), гомованилиновая кислота (ГВК), 3-метокситирамин (3-МТ).

Лабораторные животные. Исследование выполнено на 344 мышах-самцах линии C57Bl/6 (питомник «Столбовая» (Московская область)). Животных содержали в условиях вивария при 20–24 °С, относительной влажности 45–65% и 12-часовом световом цикле в пластиковых клетках по 6–10 особей. Мыши имели свободный доступ к воде и корму.

Процедуры с лабораторными животными выполнялись в соответствии с российскими и международными документами: Решением Совета Евразийской экономической комиссии (ЕЭК) № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» от 03.11.2016 г., ГОСТом

33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 20.11.2014 г., Рекомендацией Коллегии ЕЭК № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» от 14.11.2023 г.

Все экспериментальные процедуры были одобрены комиссией по биоэтике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Методы моделирования паркинсонического синдрома. ПС моделировался путем введения нейротоксина 6-ГОДА в правое полосатое тело (ПТ) (Alvarez-Fischer D. et al. // *Experimental neurology*. 2008. Vol. 210. №. 1. P. 182-193). За 30 минут до начала операции мышам внутрибрюшинно вводили пентобарбитал натрия (60 мг/кг). Концентрация 6-ГОДА составляла 2,5 мкг на 1 мкл раствора, содержащего 0,9% NaCl и 0,02% аскорбиновой кислоты. Мышам опытных групп вводили 2 мкл раствора нейротоксина со скоростью 1 мкл/мин при помощи гамильтоновского шприца с иглой из нержавеющей стали (30 gauge) на протяжении 2 минут. Аналогично ложно-оперированным животным вводили 2 мкл контрольного раствора, содержащего 0,9% NaCl и 0,02% аскорбиновой кислоты.

В качестве второй экспериментальной модели использовался МФТП-индуцированный ПС, который вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения МФТП в дозе 30 мг/кг (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова и др. М.: Гриф и К., 2012. 944 с.). Регистрацию времени наступления тремора (в секундах) начинали сразу после введения нейротоксина. По завершении оценки развития тремора проводили тест «длина шага», через 60 минут после введения нейротоксина для оценки дальнейших двигательных нарушений использовали тест «вертикальный стержень», через 70 минут – тест «вращающийся стержень».

Эксперимент по моделированию ПС при помощи параквата с дальнейшей оценкой антипаркинсонического действия комбинации ладастена с фабомотизолом проводился на протяжении 3-х недель. Паракват растворяли в физиологическом растворе и вводили внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг на 1-й, 5-й, 8-й, 12-й, 15-й и 19-й дни эксперимента (Rudyk C. et al. // *Neurobiology of stress*. 2019. Vol. 11. P. 100179).

Схема введения препаратов. Ладастен вводился в виде суспензии, приготовленной с использованием твин-80, а фабомотизол и леводопа – в виде водных растворов. При моделировании 6-ГОДА-индуцированного ПС на следующий день после стереотаксической операции животным вводили ладастен (в дозах 10, 50 и 100 мг/кг, перорально) или фабомотизол (в дозах 2,5, 5 и 10 мг/кг, перорально), или комбинацию ладастена (10, 50 и 100 мг/кг, перорально) с фабомотизолом (5 и 10 мг/кг, перорально) ежедневно на протяжении 14 дней. Аналогичным образом животным вводили препарат сравнения леводопу в дозе 50 мг/кг и плацебо (раствор твин-80 в воде). При моделировании ПС с помощью МФТП исследуемые вещества вводили однократно перорально за 30 минут до введения нейротоксина. При

моделировании ПС при помощи параквата исследуемые вещества вводили с первого дня эксперимента перорально на протяжении 21 дня.

Методы оценки противопаркинсонической активности. Тест «вращающийся стержень» проводили для оценки нарушения координации движений, развития моторного дефицита и возможности сохранения равновесия (Brooks S. P. et al. // *Current protocols in mouse biology*. 2012. Vol. 2. №. 1. P. 37-53). Тестирование включало в себя оценку способности мышей удерживаться на стержне в двух режимах: при постоянной скорости вращения (20 об/мин) и при нарастающей скорости вращения (от 4 до 30 об/мин). В модели МФТП-индуцированного ПС тестирование проводилось при постоянной скорости вращения (10 об/мин).

Тест «вертикальный стержень» проводили для оценки выраженности брадикинезии и нарушения координации движений (Glajch K. E. et al. // *Behavioral brain research*. 2012. Vol. 230. № 2, P. 309-316). Во время тестирования мышей помещали носом вверх на верхушку стержня, затем замеряли время, необходимое животному для ориентирования – поворота головой вниз и спуска по стержню. Максимальное время тестирования составляло 60 секунд.

Тест «цилиндр» проводили для регистрации спонтанной активности передних конечностей с целью установления наличия их асимметрии (Magno L. A. V. et al. // *Bio Protocol*. 2019. Vol 9. № 16. P. e3337). Тестирование включало в себя регистрацию касаний обеими передними лапами животных со стенками цилиндра на протяжении 10 минут. Полученные данные выражали в процентах использования контрлатеральной к стороне повреждения (левой) лапы по отношению к общему числу контактов.

Тест «длина шага» проводили для оценки выраженности экстрапирамидной ригидности при развитии ПС, в частности, нарушения походки (уменьшения длины шага) (Brooks S. P. et al. // *Current protocols in mouse biology*. 2012. Vol. 2. №. 1. P. 37-53). Тестирование осуществлялось в узком коридоре, куда помещали животное с предварительно окрашенными лапами. Вычисляли среднее между каждым шагом с обеих сторон, при этом не учитывались самые первые и самые последние шаги, совершенные животным.

Нейрохимический анализ проводили путем определения концентрации ДА и его метаболитов с использованием внутреннего стандарта, для чего образцы гомогенизировали в 0,1 М HClO_4 с добавлением 3,4-дигидроксибензиламина в концентрации 0,25 нмоль/мл в шаровом гомогенизаторе с частотой 45 ударов в минуту в течение 5 минут. Далее проводили центрифугирование образцов при 10000 g в течение 10 минут, после чего надосадочную жидкость наносили на аналитическую колонку с помощью автосемплера. Подвижной фазой при разделении аналитов служил 0,1 М цитратно-фосфатный буфер, содержащий 0,3 мМ октансульфоната натрия, 0,1 мМ ЭДТА и 8% ацетонитрила (pH 2,8).

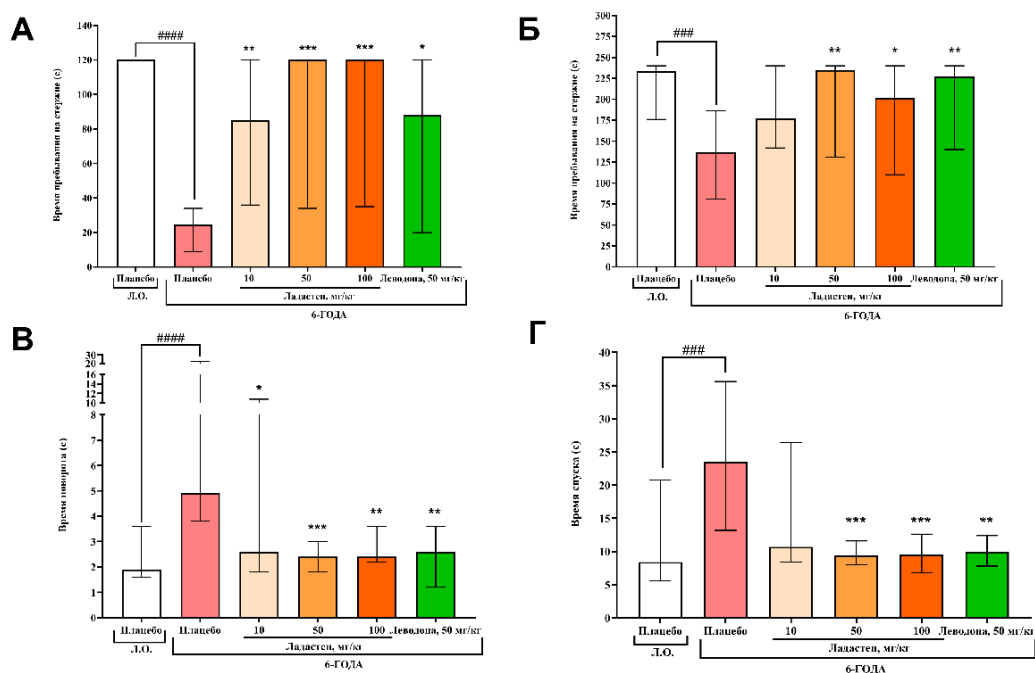
Статистическую обработку данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 8.4.3. Нормальность распределения проверяли при помощи критерия Шапиро–Уилка, при нормальном распределении данных в группах использовали однофакторный дисперсионный

анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету, а при распределении, отличном от нормального распределения – критерий Краскела–Уоллиса с множественным сравнением по Данну. Данные представляли в виде среднего \pm стандартное отклонение или медианы (макс.–мин. значения).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование наличия антипаркинсонического действия субстанции ладастена

Пероральное хроническое введение ладастена способствовало снижению выраженности моторного дефицита и нарушенной координации движений в тесте «вращающийся стержень» при 6-ГОДА-индуцированном ПС у мышей: при постоянной скорости вращения ладастен в дозе 10 мг/кг увеличивал время удержания на стержне в 3,5 раза ($p < 0,01$), а в дозах 50 и 100 мг/кг – в 4,9 раза ($p < 0,001$) по сравнению с группой 6-ГОДА + плацебо (здесь и далее группа контроля). В варианте тестирования при нарастающей скорости вращения стержня ладастен был эффективен только в дозах 50 и 100 мг/кг, увеличив время удержания мышей в 1,7 раза ($p < 0,01$) и 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (Рисунок 1 А, Б).



Примечание – Л.О. – ложно-оперированные животные, 6-ГОДА – животные с унилатеральным интратриатным введением 6-ГОДА. Данные представлены в виде медианы (макс.–мин. значения). Критерий Краскела–Уоллиса с множественным сравнением по Данну: ##### – $p < 0,0001$, ### – $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с ложно-оперированными животными, получавшими плацебо; **** – $p < 0,0001$, *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$, * – $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с животными с интратриатным введением 6-ГОДА и получавшими плацебо.

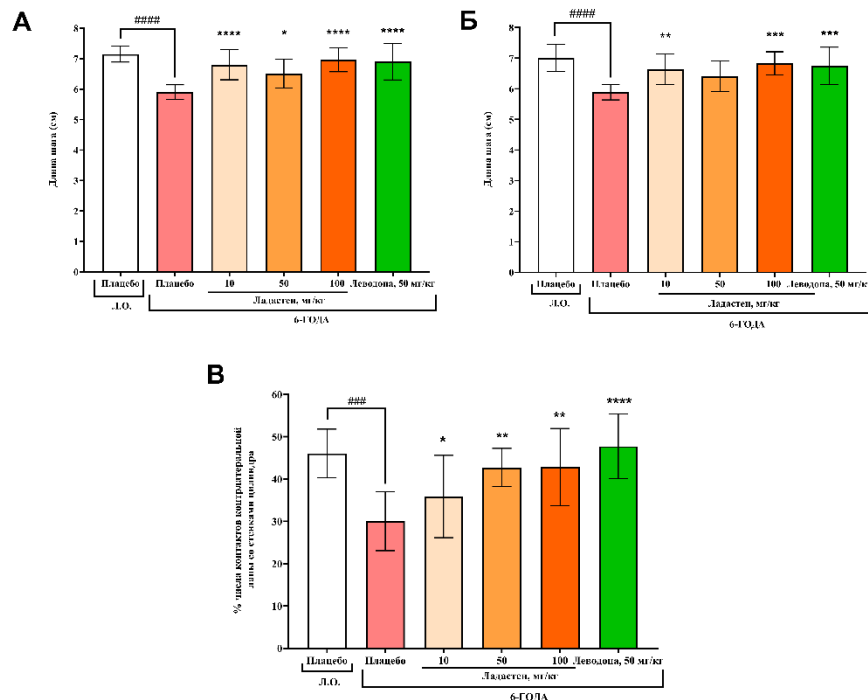
Рисунок 1 – Влияние ладастена на выраженность двигательных нарушений у мышей при 6-ГОДА-индуцированном ПС в поведенческих тестах «вращающийся стержень» при постоянной (А) и нарастающей (Б) скорости вращения; «вертикальный стержень»: время поворота (В) и время спуска (Г)

При оценке брадикинезии в тесте «вертикальный стержень» обнаружено, что введение ладастена в дозе 10 мг/кг достоверно влияло только на время поворота, сокращая его в 2,6 раза

($p < 0,05$) по сравнению с контролем, а в дозах 50 и 100 мг/кг приводило к снижению брадикинезии, уменьшая время поворота в 2 раза ($p < 0,001$ и $p < 0,01$), а время спуска в 2,5 раза ($p < 0,001$) и в 2,45 раза ($p < 0,001$) соответственно (Рисунок 1 В, Г).

Ладастен в дозе 10 мг/кг увеличивал длину шага передних и задних лап на 0,9 см (15,3%; $p < 0,0001$) и 0,7 см (11,9%; $p < 0,01$), а в дозе 50 мг/кг – длину шага только передних лап на 0,6 см (10,2%; $p < 0,05$) по сравнению с контролем. Наиболее эффективным в снижении выраженности ригидности оказался ладастен в дозе 100 мг/кг, поскольку длина шага передних и задних лап достоверно увеличивалась на 1,1 см (18,6%; $p < 0,0001$) и на 1 см (15,7%; $p < 0,001$) по сравнению с контролем (Рисунок 2 А, Б).

Ладастен способствовал устранению моторной асимметрии в дозе 10 мг/кг, увеличив использование левой лапы до 39,3% от общего числа контактов ($p < 0,05$), что превышает в 1,3 раза данный показатель у контроля, а в дозах 50 и 100 мг/кг число касаний конечностью, контрлатеральной к стороне повреждения, увеличилось в 1,4 раза по сравнению с контролем, составив 42,7% ($p < 0,01$) и 42,8% ($p < 0,01$) соответственно от общего числа контактов (Рисунок 2 В).



Примечание – Л.О. – ложно-оперированные животные, 6-ГОДА – животные с унилатеральным интратриатным введением 6-ГОДА. Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету: ##### – $p < 0,0001$, ### – $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с ложно-оперированными животными, получавшими плацебо; **** – $p < 0,0001$, *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$, * – $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с животными с интратриатным введением 6-ГОДА и получавшими плацебо.

Рисунок 2 – Влияние ладастена на выраженность двигательных нарушений у мышей при 6-ГОДА-индуцированном ПС в поведенческих тестах «длина шага»: передние лапы (А), задние лапы (Б); «цилиндр» (В)

Также установлена способность леводопа оказывать дофаминпозитивное воздействие на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС, причем наиболее эффективно в дозе 100 мг/кг, поскольку уровень ДА в поврежденном ПТ был выше в 3,4 ($p < 0,001$), а его метаболитов ДОФУК и ГВК в 2,3 раза ($p < 0,01$), а 3-МТ в 2,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. Леводопа способствовала снижению выраженности всех вышеописанных проявлений ПС (Рисунок 1, 2) и также оказывала дофаминпозитивное влияние на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС.

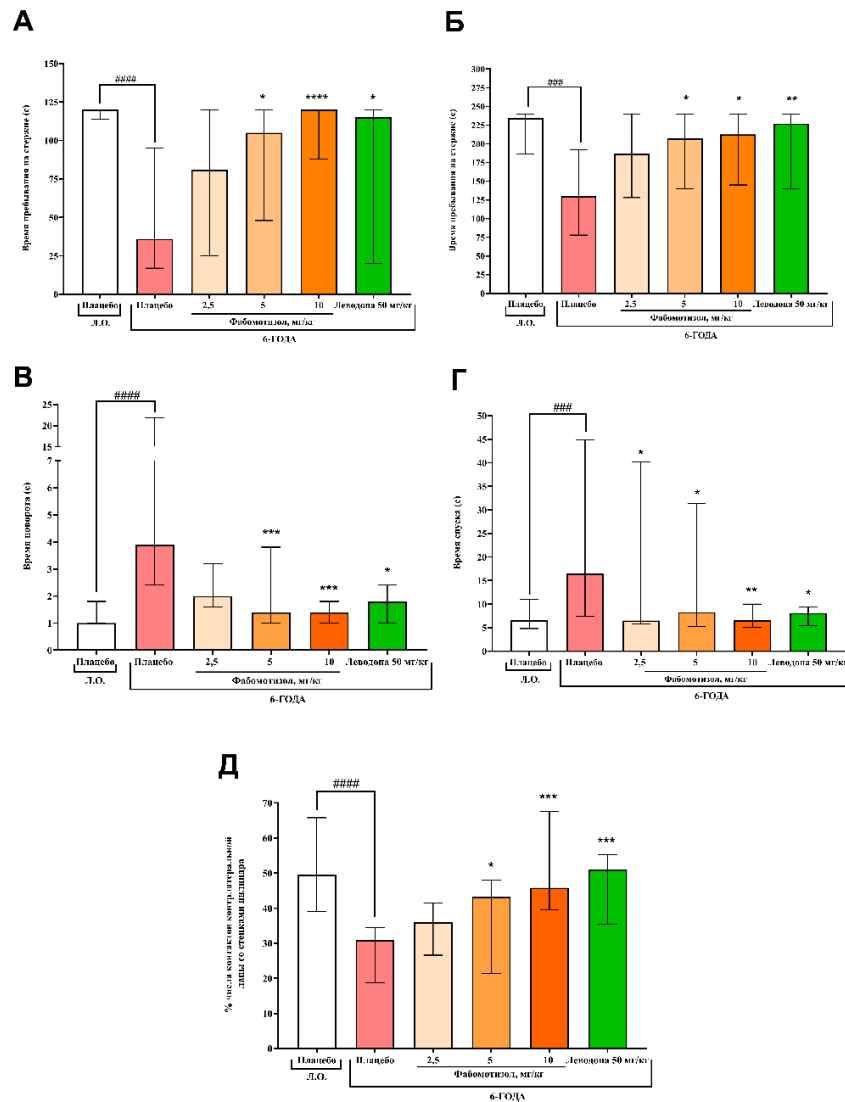
Исследование наличия антипаркинсонического действия субстанции фабомотизола

Пероральное введение фабомотизола в течение 14 дней при 6-ГОДА-индуцированном ПС у мышей способствовало снижению выраженности моторного дефицита и нарушенной координации движений в тесте «вращающийся стержень»: в дозе 2,5 мг/кг не было выявлено достоверных улучшений по сравнению с контролем, однако в дозах 5 и 10 мг/кг время удержания увеличивалось по сравнению с контролем при постоянной скорости вращения в 2,9 ($p < 0,05$) и 3,3 ($p < 0,0001$) раза, а при нарастающей – в 1,6 ($p < 0,05$) и 1,64 ($p < 0,05$) раза соответственно (Рисунок 3 А, Б).

В тесте «вертикальный стержень» фабомотизол в дозе 2,5 мг/кг достоверно влиял только на время спуска, уменьшая его в 2,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, а в дозах 5 и 10 мг/кг время поворота сокращалось в 2,8 раза ($p < 0,001$), а время спуска в 2 раза ($p < 0,05$) и в 2,5 раза ($p < 0,01$) соответственно (Рисунок 3 В, Г).

В тесте «цилиндр» фабомотизол в дозе 2,5 мг/кг не оказывал достоверного влияния на задействование левой лапы, а в дозах 5 и 10 мг/кг восстанавливал способность мышей использовать данную конечность до 43,2% и 45,8% от общего числа контактов, что превышает в 1,4 ($p < 0,05$) и 1,48 ($p < 0,001$) раза соответственно данный показатель группы контроля (Рисунок 3 Д).

Также показана способность фабомотизола препятствовать снижению уровня ДА и его метаболитов на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС наиболее эффективно в дозе 10 мг/кг. Так, монотерапия фабомотизолом приводила к повышению уровня ДА в поврежденном ПТ в 2,8 раза ($p < 0,0001$), уровня ДОФУК в 2 раза ($p < 0,05$) и 3-МТ в 1,95 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контролем. При этом уровень ГВК повышался в 1,3 раза на фоне введения фабомотизола в дозе 10 мг/кг, однако данное изменение не было статистически значимым. Леводопа способствовала снижению выраженности всех вышеописанных проявлений ПС (Рисунок 3) и также оказывала дофаминпозитивное влияние на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС.



Примечание – Л.О. – ложно-оперированные животные, 6-ГОДА – животные с унилатеральным интратриатным введением 6-ГОДА. Данные представлены в виде медианы (макс.–мин. значения). Критерий Краскела–Уоллиса с множественным сравнением по Данну: ##### – $p < 0,0001$, ### – $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с ложно-оперированными животными, получавшими плацебо; **** – $p < 0,0001$, *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$, * – $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с животными с интратриатным введением 6-ГОДА и получавшими плацебо.

Рисунок 3 – Влияние фабомотизола на выраженность двигательных нарушений у мышей при 6-ГОДА-индуцированном ПС в поведенческих тестах «вращающийся стержень» при постоянной (А) и нарастающей (Б) скорости вращения; «вертикальный стержень»: время поворота (В), время спуска (Г); «цилиндр» (Д)

Исследование наличия антипаркинсонического действия комбинаций субстанций ладастена с фабомотизолом

Следующим этапом работы стал подбор оптимального дозового соотношения комбинированной терапии субстанциями ладастена в дозах 10, 50 и 100 мг/кг и фабомотизола в дозах 5 и 10 мг/кг, поскольку выбранные дозы оказались наиболее эффективными на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС при использовании данных ЛС в составе монотерапии. При этом наибольшее положительное воздействие наблюдалось при комбинировании ладастена в больших дозах (50 и 100 мг/кг) с фабомотизолом. Так, комбинации ладастена в дозах 50 и 100

мг/кг с фабомотизолом в дозе 5 мг/кг снижали выраженность моторного дефицита и нарушенной координации движений в тесте «вращающийся стержень» в 3,2 раза ($p < 0,0001$) при постоянной скорости вращения стержня, а при нарастающей скорости вращения – в 1,8 раза ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно) по сравнению с контролем (Таблица 1). Комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг снижали подобные проявления ПС в данном тесте в 5 раз ($p < 0,0001$ и $p < 0,001$ соответственно) при постоянной скорости вращения стержня, а при нарастающей скорости вращения – в 2,1 раза ($p < 0,0001$) и 1,9 раза ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с контролем (Таблица 1).

Сходным образом в тесте «вертикальный стержень» комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 5 мг/кг сокращали время поворота в 1,4 раза ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно) и время спуска в 1,4 ($p < 0,001$) и 1,3 ($p < 0,01$) раза соответственно по сравнению с контролем, а комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг сокращали время поворота в 1,55 ($p < 0,05$) и 1,6 раза ($p < 0,05$), а время спуска – в 1,53 ($p < 0,05$) и в 1,56 ($p < 0,01$) раза соответственно по сравнению с контролем (Таблица 1).

Таблица 1 – Влияние 14-дневного введения комбинаций ладастена (10, 50, 100 мг/кг) с фабомотизолом (5, 10 мг/кг) на проявления 6-ГОДА-индуцированного паркинсонического синдрома у мышей в батарее поведенческих тестов

Группа		Поведенческие тесты						
		«Вращающийся стержень» (время удержания, с)		«Вертикальный стержень»		«Цилиндр» (% числа контактов контрлатеральной к стороне повреждения лапой)	«Длина шага» (длина шага, см)	
		20 об/мин	4-30 об/мин	Время поворота (с)	Время спуска (с)		Передние лапы	Задние лапы
Комбинация ладастена (10, 50, 100 мг/кг) с фабомотизолом (5 мг/кг)								
Л.О.	Плацебо, n = 12	120 (111-120)	235 (195-240)	1,6 (1,4-1,8)	7,8 (6-9,4)	46,5 ± 5,6	6,9 ± 0,7	6,9 ± 0,7
6-ГОДА	Плацебо, n = 12	37 (27-59) ####	118,5 (108-123) ####	2,6 (2,4-3) #####	9,7 (8,7-12) #	33,3 ± 4,6 ###	5,8 ± 0,35 ###	5,7 ± 0,3 ####
	Ладастен 10 мг/кг + фабомотизол 5 мг/кг, n = 12	70,5 (43-120)	211 (183-237) **	1,9 (1,6-2,7) *	7,6 (6,9-9,6) *	44,0 ± 8,9 **	6,1 ± 0,7	6,1 ± 0,7
	Ладастен 50 мг/кг + фабомотизол 5 мг/кг, n = 12	120 (109-120) ****	214 (189-240) ***	1,9 (1,5-2,5) *	6,9 (6,2-7,8) ***	42,5 ± 11 *	6,8 ± 0,7 **	6,8 ± 0,7 ***
	Ладастен 100 мг/кг + фабомотизол 5 мг/кг, n = 12	120 (99-120) ****	216 (160-239) **	1,8 (1,8-2) **	7,4 (6,9-8,6) **	44,9 ± 6,9 **	6,8 ± 0,5 **	6,7 ± 0,5 ***
	Леводопа 50 мг/кг, n = 12	120 (89-120) ***	240 (203-240) ****	2 (1,4-2,2) **	7,6 (6,5-8,7) **	46,7 ± 7,3 ***	6,7 ± 0,45 **	6,6 ± 0,5 **

Продолжение Таблицы 1

Комбинация ладастена (10, 50, 100 мг/кг) с фабомотизолом (10 мг/кг)								
Л.О.	Плацебо, n = 12	120 (117-120)	227 (184-240)	1,9 (1,3-2)	7,9 (6,9-9,2)	47,8 ± 4,6	6,7 ± 0,4	6,6 ± 0,4
6-ГОДА	Плацебо, n = 12	24 (19-38)####	111 (85-144)###	3,4 (2,5-5,4)###	15 (12-25)####	28,6 ± 9,4####	5,7 ± 0,9###	5,7 ± 0,7###
	Ладастен 10 мг/кг + фабомотизол 10 мг/кг, n = 12	120 (51-120)***	171 (160-235)*	2,8 (2,1-3)	9,4 (8,2-12)**	38,4 ± 7,8*	6,4 ± 0,5*	6,2 ± 0,5
	Ладастен 50 мг/кг + фабомотизол 10 мг/кг, n = 12	120 (120-120)****	233 (207-240)****	2,2 (1,5-2,6)*	9,8 (8,2-12)*	46,2 ± 8,5****	6,4 ± 0,4*	6,2 ± 0,5
	Ладастен 100 мг/кг + фабомотизол 10 мг/кг, n = 12	120 (80-120)***	214 (159-240)**	2,1 (1,8-2,8)*	9,6 (8,5-11)**	44,6 ± 7,9****	6,5 ± 0,5**	6,4 ± 0,5**
	Леводопа 50 мг/кг, n = 12	120 (89-120)***	240 (180-240)****	2,1 (2-2,4)*	7,5 (8,5-10)****	44,8 ± 9,8****	6,8 ± 0,6***	6,6 ± 0,7***

Примечание – Л.О. – ложно-оперированные животные с интрастриатным унилатеральным введением контрольного раствора, 6-ГОДА – животные с интрастриатным унилатеральным введением 6-ГОДА. Данные тестов «вращающийся стержень» и «вертикальный стержень» представлены в виде медианы и квартилей (Ме (q25–75). Критерий Краскела–Уоллиса с множественным сравнением по Данну: ##### – $p < 0,0001$, # – $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с ложно-оперированными животными, **** – $p < 0,0001$, *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$, * – $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с животными, претерпевшими интрастриатное введение 6-ГОДА и получавшими плацебо. Данные тестов «цилиндр» и «длина шага» представлены в виде среднего ± стандартное отклонение. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету: ##### – $p < 0,0001$, ### – $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с ложно-оперированными животными; **** – $p < 0,0001$, *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$, * – $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с животными, претерпевшими интрастриатное введение 6-ГОДА и получавшими плацебо.

Комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 5 мг/кг приводили к увеличению использования левой лапы до 42,5% и 44,9% соответственно от общего числа контактов, что было в 1,28 ($p < 0,05$) и 1,35 раза ($p < 0,01$) соответственно больше группы контроля, а комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг – до 46,2% и 44,6% соответственно от общего числа контактов, что превышало данный показатель контроля в 1,62 ($p < 0,0001$) и 1,56 раза ($p < 0,0001$) соответственно (Таблица 1).

В тесте «длина шага» комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 5 мг/кг увеличивали длину шага передних конечностей на 1 см ($p < 0,01$), а задних – на 1,1 см (19,3%; $p < 0,001$) и на 1,0 см (17,5%; $p < 0,001$) соответственно по сравнению с группой контроля. Комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг увеличивали длину шага передних лап на 0,7 см (12,3%; $p < 0,05$) и 0,8 см (14%; $p < 0,01$) соответственно, а задних лап на 0,5 см (8,8%) и 0,7 см (12,3%; $p < 0,01$) соответственно по сравнению с контролем (Таблица 1).

Синергизм в комбинациях ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг и ладастена в дозе 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг проявился в основном в виде аддитивного действия в тестах «вращающийся стержень» и «цилиндр», поскольку укладывается в формулу: эффект комбинации ладастена с фабомотизолом > эффекта ладастена, эффекта фабомотизола, но эффект комбинации ладастена с фабомотизолом < эффекта ладастена + эффект фабомотизола. При этом синергизм в комбинациях ладастена с фабомотизолом в дозе 5 мг/кг практически не был выражен, за исключением теста «вращающийся стержень» при нарастающей скорости вращения. В тесте «вертикальный стержень» не было зафиксировано синергичного действия при комбинировании ладастена с фабомотизолом во всем дозовом диапазоне.

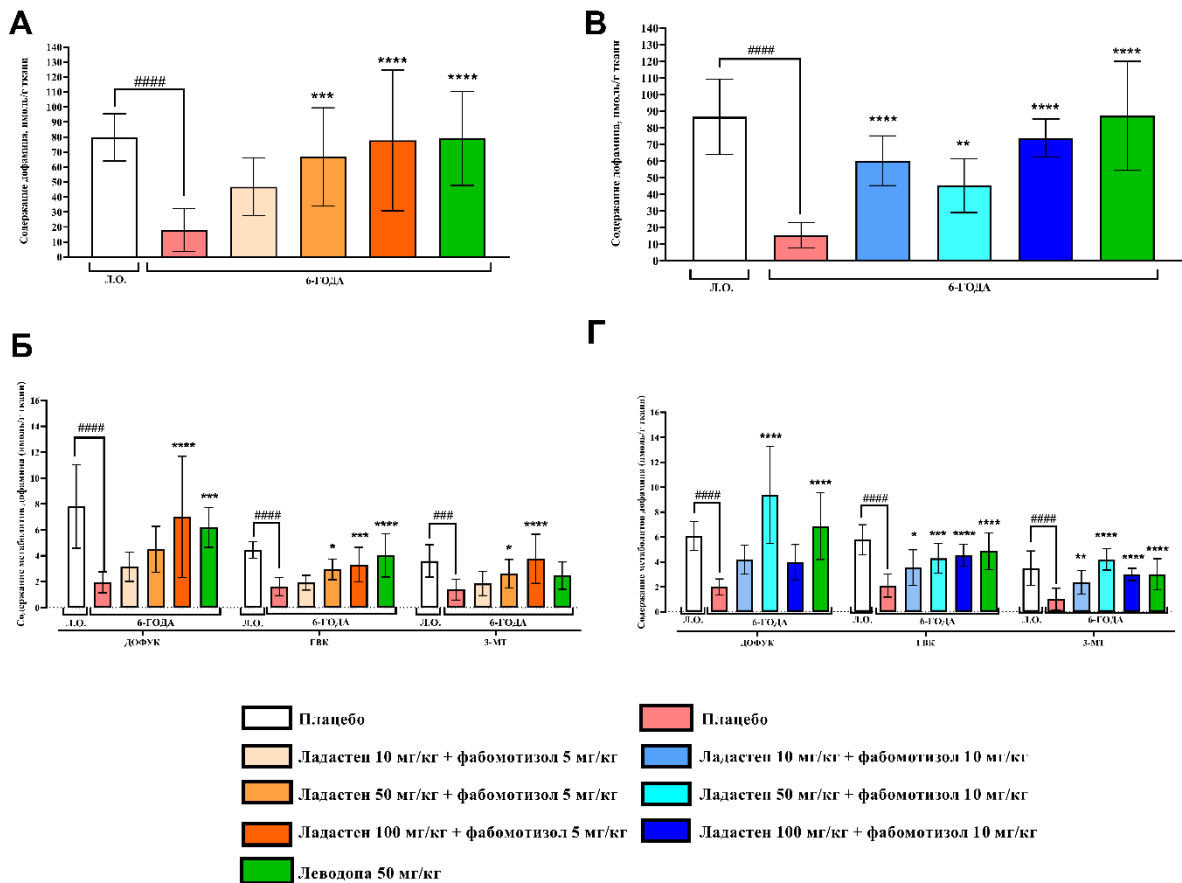
Таким образом, по совокупности имеющихся данных поведенческих тестов, наиболее эффективными являлись комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг. Стоит отметить, что эффективность вводимых комбинаций ладастена с фабомотизолом была сопоставима с эффективностью леводопы (Таблица 1).

При нейрохимическом анализе установлено, что комбинация ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 5 мг/кг повышала содержание ДА в 3,7 раза ($p < 0,001$), ДОФУК в 2,3 раза, ГВК в 1,8 раза ($p < 0,05$) и 3-МТ в 1,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, а комбинация ладастена в дозе 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 5 мг/кг – содержание ДА в 4,3 раза ($p < 0,0001$), ДОФУК в 3,6 раза ($p < 0,0001$), ГВК – в 2 раза ($p < 0,001$) и 3-МТ в 2,7 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с контролем (Рисунок 4 А, Б).

Наибольшее повышение уровня ДА наблюдалось в группе, получавшей комбинацию ладастена в дозе 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг, и превышало в 4,8 раза ($p < 0,0001$) уровень данного моноамина в группе контроля (Рисунок 4 В). Интересно отметить, что наименьшее увеличение содержания ДА наблюдалось при введении комбинации ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг, и было выше в 3 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контролем, однако у животных этой группы зафиксировано наибольшее среди других экспериментальных групп достоверное повышение содержания метаболитов ДА – ДОФУК в 4,7 раза ($p < 0,0001$) и 3-МТ в 4,17 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с контролем, что, вероятно, свидетельствует об усилении метаболизма ДА (Рисунок 4 Г). На фоне введения данной комбинации уровень ГВК повышался в 2 раза ($p < 0,001$). При этом при введении комбинации ладастена в дозе 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг возрастало содержание ДОФУК в 2 раза, ГВК в 2,16 раза ($p < 0,0001$) и 3-МТ в 3 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с контролем (Рисунок 4 Г).

Синергичное действие ладастена с фабомотизолом в комбинации проявлялось во влиянии на уровень ДА и практически всех его метаболитов в поврежденном ПТ, кроме ГВК. Причем, синергизм был выражен в основном в виде аддитивного действия, поскольку укладывается в формулу: эффект комбинации ладастена с фабомотизолом > эффекта ладастена,

эффекта фабомотизола, но эффект комбинации ладастена с фабомотизолом < эффекта ладастена + эффект фабомотизола. Однако, синергичное действие комбинации ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг на уровень ДОФУК в поврежденном ПТ было выражено в виде потенцирования, поскольку наблюдаемый эффект превосходил ожидаемый. Аддитивное влияние на уровень 3-МТ было выражено только у комбинаций ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг. При этом влияние комбинаций ладастена с фабомотизолом на дофаминергическую систему сопоставимо с таковым у леводопы (Рисунок 4).



Примечания: Л.О. – ложно-оперированные животные с интрасстриатным унилатеральным введением контрольного раствора, 6-ГОДА – животные с интрасстриатным унилатеральным введением 6-ГОДА. Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету: ##### – $p < 0,0001$ – статистически значимые различия по сравнению с ложно-оперированными животными; **** – $p < 0,0001$, *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$, * – $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с животными, претерпевшими интрасстриатное введение 6-ГОДА и получавшими плацебо.

Рисунок 4 – Влияние комбинаций ладастена (10, 50, 100 мг/кг) с фабомотизолом (5 мг/кг) на уровень дофамина (А) и его метаболитов (Б) и комбинаций ладастена (10, 50, 100 мг/кг) с фабомотизолом (10 мг/кг) на уровень дофамина (В) и его метаболитов (Г) в поврежденном 6-ГОДА полосатом теле

По результатам исследований антипаркинсонической активности комбинаций ладастена с фабомотизолом на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС, для дальнейшего изучения были отобраны комбинации ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг и ладастена в дозе 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг. На модели МФТП-индуцированного ПС у

мышей было показано, что острое введение данных комбинаций успешно снижало выраженность различных проявлений ПС, причем эффективнее, чем при использовании монотерапии ладастеном или фабомотизолом (Таблица 2). При этом наибольшую эффективность продемонстрировала комбинация ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг. Снижение выраженности ПС под действием данной комбинации было сопоставимо с таковым у леводопы (Таблица 2).

Синергичное действие исследуемых комбинаций вновь проявилось в виде аддитивного влияния на все анализируемые параметры в проведенных тестах, за исключением показателя времени поворота в «вертикальном стержне».

Таблица 2 – Влияние острого введения комбинаций ладастена с фабомотизолом на проявления МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома у мышей в батарее поведенческих тестов

Группа	Поведенческие тесты					
	«Вращающийся стержень» (время удержания, с)	«Вертикальный стержень»		Время наступления тремора (с)	«Длина шага» (длина шага, см)	
		Время поворота (с)	Время спуска (с)		Передние лапы	Задние лапы
Физиологический раствор + плацебо, n = 8	240 (240-240)	2,4 ± 0,4	7,8 ± 0,6	-	7,5 ± 0,6	7,4 ± 0,6
МФТП + плацебо, n = 8	29,5 (21,25-66,75) #####	30,8 ± 11,7 #####	45,25 ± 12,1 #####	61,4 ± 10,1	5 ± 0,3 #####	5,1 ± 0,5 #####
МФТП + ладастен 50 мг/кг + фабомотизол 10 мг/кг, n = 8	145,5 (88,5-228) **	14,9 ± 6,8 **	29,4 ± 8,8 *	113,9 ± 44 ***	6,2 ± 0,6 ****	6,5 ± 0,4
МФТП + ладастен 100 мг/кг + фабомотизол 10 мг/кг, n = 8	99,5 (84,25-156,5) *	17,2 ± 5,1 *	32,5 ± 8,1	107,4 ± 13,3 **	6,0 ± 0,1 ***	6,2 ± 0,5
МФТП + ладастен 50 мг/кг, n = 8	75,5 (57,75-93,25)	22,3 ± 5,3	38,1 ± 5,5	79,9 ± 12,45	6,2 ± 0,4 ****	5,9 ± 0,5
МФТП + ладастен 100 мг/кг, n = 8	75,0 (62-189,3)	22,5 ± 12,3	33,1 ± 15,4	89,6 ± 23,5	5,7 ± 0,4 *	5,95 ± 0,7
МФТП + фабомотизол 10 мг/кг, n = 8	96,0 (70,5-134,8)	26,1 ± 13,45	39,9 ± 16	75,1 ± 10,8	5,6 ± 0,3	5,6 ± 0,2
МФТП + леводопа 50 мг/кг, n = 8	140,0 (65-164,3) *	13,8 ± 8,7 ##	23,68 ± 11,29 ##	134,13 ± 25,64 ****	5,9 ± 0,2 ***	5,9 ± 0,2

Примечание – Данные теста «вращающийся стержень» представлены в виде медианы и квартилей (q25–75). Критерий Краскела–Уоллиса с множественным сравнением по Данну: ##### – p < 0,0001 – статистически значимые различия по сравнению с группой физиологический раствор + плацебо, ** – p < 0,01, * – p < 0,05 – статистически значимые различия по сравнению с группой МФТП + плацебо. Данные остальных тестов представлены в виде среднего ± стандартное отклонение. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету: ##### – p < 0,0001 – статистически значимые различия по сравнению с группой физиологический раствор + плацебо; **** – p < 0,0001, *** – p < 0,001, ** – p < 0,01, * – p < 0,05 – статистически значимые различия по сравнению с группой МФТП + плацебо.

В качестве исследуемой комбинации на модели паракват-индуцированного ПС была выбрана комбинация ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг, поскольку она оказалась эффективной на моделях 6-ГОДА- и МФТП-индуцированного ПС. Данная комбинация ладастена с фабомотизолом устраняла проявления ПС в батарее поведенческих

тестов, причем наиболее выраженные различия по сравнению с контролем были обнаружены на 3-й неделе эксперимента и эффективность комбинации была сопоставима с таковой у леводопы (Таблица 3).

Таблица 3 – Влияние комбинации ладастена в дозе 50 мг/кг с фабототизолом в дозе 10 мг/кг на выраженность проявлений паркинсонического синдрома, индуцированного паракватом, у мышей

Неделя	Группа	Поведенческие тесты					
		«Вращающийся стержень» (время удержания, с)		«Вертикальный стержень»		«Длина шага» (длина шага, см)	
		20 об/мин	4-30 об/мин	Время поворота (с)	Время спуска (с)	Передние лапы	Задние лапы
1-я неделя (2 инъекции параквата)	Физиологический раствор + плацебо, n = 8	98,6 ± 15,1	179,6 ± 17,4	2,5 ± 0,5	7,7 ± 1,2	8 ± 0,5	7,85 ± 0,5
	Паракват + плацебо, n = 8	56,7 ± 20,5 ###	125,6 ± 37,1 ##	3,3 ± 1,6	8,6 ± 2,3	6,6 ± 0,8 ##	6,5 ± 0,6 ###
	Паракват + ладастен 50 мг/кг + фабототизол 10 мг/кг, n = 8	101,8 ± 10,5 ***	180,4 ± 10,3 **	2,9 ± 0,3	7,6 ± 0,7	7,9 ± 0,4 **	7,75 ± 0,4 ***
	Паракват + леводопы 50 мг/кг, n = 8	91,2 ± 10,3 **	184,9 ± 28,2 **	2,87 ± 0,6	8,1 ± 1,4	7,4 ± 0,6	7,28 ± 0,5 *
2-я неделя (4 инъекции параквата)	Физиологический раствор + плацебо, n = 8	107,2 ± 14,4	217,9 ± 21,5	1,9 ± 0,6	6,5 ± 1,1	7,9 ± 0,4	7,8 ± 0,4
	Паракват + плацебо, n = 8	46 ± 20,3 #####	157,6 ± 14,6 ###	2,7 ± 0,9	8,97 ± 2,2 #	6,97 ± 0,7 #	7,1 ± 0,7
	Паракват + ладастен 50 мг/кг + фабототизол 10 мг/кг, n = 8	99,2 ± 16,1 ****	202,4 ± 28,7 **	2,4 ± 0,6	6,7 ± 1,7 *	7,97 ± 0,5 *	7,8 ± 0,4 *
	Паракват + леводопы 50 мг/кг, n = 8	102,5 ± 15,2 ****	207,4 ± 14,7 **	2,1 ± 0,3	6,6 ± 0,7 *	7,87 ± 0,6 *	7,7 ± 0,6
3-я неделя (6 инъекций параквата)	Физиологический раствор + плацебо, n = 8	109,8 ± 13,4	226,1 ± 20,8	2,13 ± 0,2	5,7 ± 1,4	7,95 ± 0,6	8 ± 0,5
	Паракват + плацебо, n = 8	51,4 ± 28,4 #####	141,6 ± 48,3 ###	3,1 ± 0,8 ##	10,2 ± 2,2 #####	6,9 ± 0,18 ##	6,9 ± 0,2 ##
	Паракват + ладастен 50 мг/кг + фабототизол 10 мг/кг, n = 8	109,2 ± 11,95 ****	208,8 ± 21,4 **	2,17 ± 0,2 *	6,2 ± 0,7 ***	7,73 ± 0,2 *	7,8 ± 0,2 *
	Паракват + леводопы 50 мг/кг, n = 8	106,8 ± 13,6 ****	204,1 ± 15,4 **	2,5 ± 0,5	6,8 ± 0,8 **	7,72 ± 0,8 *	8,2 ± 0,95 **

Примечание – Данные представлены в виде среднего ± стандартное отклонение. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннету: ##### – p < 0,0001, ### – p < 0,001, ## – p < 0,01, # – p < 0,05 – статистически значимые различия по сравнению с группой физиологический раствор + плацебо; **** – p < 0,0001, *** – p < 0,001, ** – p < 0,01, * – p < 0,05 статистически значимые различия по сравнению с группой паракват + плацебо.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Способность комбинации ладастена и фабототизола при длительном пероральном введении оказывать антипаркинсоническое действие на унилатеральной модели 6-ГОДА-индуцированного ПС можно объяснить, рассмотрев механизм действия каждого ЛС. Со стороны ладастена – это способность усиливать биосинтез ДА *de novo* (Вахитова Ю. В. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2021. Т. 84. №2. С. 34-40), ингибировать его обратный захват (Морозов И. С. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1999.

Т. 62 № 1. С. 11-14), а также опосредовать фосфорилирование тирозингидроксилазы с последующим увеличением уровня ДА путем повышения активности PKA, PKC и ERK1/2 (Вахитова Ю. В. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. Т. 67. № 2. С. 12-15; Вахитова Ю. В. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. Т. 67. № 3. С. 7-9). Фабомотизол, в свою очередь, является лигандным активатором Sigma-1R (Voronin V. M. et al. // Scientific Reports. 2019. Vol. 9. №. 1. P. 1-12), который принимает важное участие в цитопротекторном действии при различных патологических процессах. Кроме того, фабомотизол также способен ингибировать NQO2 в условиях нейродегенерации, что позволяет снижать продукцию активных форм кислорода и ускорять процесс утилизации белковых агрегатов и поврежденных органелл (Кадников И. А. и др. // Нейрохимия. 2020. Т. 37. №. 2. С. 173-182). Вышеперечисленные механизмы действия используемых ЛС объясняют полученное синергичное действие при длительном введении комбинаций ладастена с фабомотизолом, что выражается в устранении различных проявлений ПС и дофаминпозитивном влиянии в унилатеральной модели 6-ГОДА-индуцированного ПС. При этом, наибольшую эффективность продемонстрировали комбинации ладастена в дозах 50 и 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг, действие которых было сопоставимо с таковым у препарата сравнения леводопы.

В эксперименте с изучением действия комбинаций ладастена с фабомотизолом при остром введении на модели МФТП-индуцированного ПС было также установлено антипаркинсоническое действие, наиболее выраженное у ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг, что проявилось снижением различных проявлений ПС. Стоит отметить, что данная комбинация была более эффективной по сравнению с монотерапией ладастеном или фабомотизолом, а также превосходила по эффективности комбинацию ладастена в дозе 100 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг. Действие комбинации ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг было сопоставимо с таковым у леводопы.

В эксперименте с изучением действия комбинации ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг на модели паракват-индуцированного ПС было показано наличие антипаркинсонического действия, которое проявлялось в устранении различных двигательных нарушений, что соотносится с вышеописанными эффектами у данной комбинации на других моделях ПС. Также данная комбинация по эффективности была сопоставима с леводопой, что согласуется с результатами экспериментов на других моделях ПС.

Таким образом, в работе впервые было продемонстрировано наличие антипаркинсонического действия у комбинации ладастена с фабомотизолом на моделях 6-ГОДА-, МФТП- и паракват-индуцированных ПС. Подобное действие охарактеризовано как синергичное, а именно аддитивное дофаминпозитивное, в условиях развившейся нейродегенерации. Во всех используемых моделях противопаркинсонические эффекты ладастена с фабомотизолом были сопоставимы с таковыми у леводопы, что определяет терапевтическую перспективность данной комбинации.

ВЫВОДЫ

1. Установлено антипаркинсоническое действие у субстанции ладастена на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей, наиболее выраженно проявляющееся при пероральном хроническом введении в дозах 50 и 100 мг/кг.
2. Установлено антипаркинсоническое действие у субстанции фабомотизола на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей, наиболее выраженно проявляющееся при пероральном хроническом введении в дозах 5 и 10 мг/кг
3. С помощью нейрохимического анализа показано, что монотерапия субстанциями ладастена (50 и 100 мг/кг) и фабомотизола (5 и 10 мг/кг) и их комбинированное введение приводят к предотвращению падения уровня ДА и его метаболитов в поврежденном ПТ при моделировании ПС посредством унилатерального интрастриатного введения 6-ГОДА.
4. Проведен подбор наиболее эффективных доз субстанций ладастена (50 и 100 мг/кг) с фабомотизолом (10 мг/кг) в составе комбинации на модели 6-ГОДА-индуцированного ПС у мышей.
5. Установлено антипаркинсоническое действие комбинации субстанций ладастена с фабомотизолом на модели МФТП-индуцированного ПС у мышей, наиболее выраженно проявляющееся при пероральном остром введении ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг.
6. Установлено антипаркинсоническое действие комбинации субстанций ладастена в дозе 50 мг/кг с фабомотизолом в дозе 10 мг/кг на модели паракват-индуцированного ПС у мышей.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты диссертационной работы обосновывают наличие выраженной антипаркинсонической активности у комбинации ладастена с фабомотизолом, определяя ее терапевтическую перспективность. Полученные данные могут в дальнейшем быть использованы для решения вопроса о возможности расширения показаний к применению у данных ЛС в рамках комбинированной фармакотерапии БП.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации

1. **Мариевский, В. Е.** Исследование антипаркинсонического действия комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паркинсонического синдрома, вызванного 6-гидроксидофамином / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2024. – Т. 87, № 9. – С. 9-14.

2. **Мариевский, В. Е.** Антипаркинсоническое действие ладастена на модели 6-гидроксидофамин-индуцированного паркинсонического синдрома у мышей / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина // Химико-фармацевтический журнал. – 2025. – Т. 59, № 4. – С. 8-13.

3. **Мариевский, В. Е.** Исследование антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома / **В. Е. Мариевский**, И. А. Любанский, С. В. Шангин [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2025. – № 1. – С. 43-52.

4. **Mariveskii, V. E.** Neurochemical analysis of the effect of the combination of ladasten with fabomotizole on the dopaminergic system of the mouse brain in 6-hydroxydopamine model of parkinsonian syndrome / **V. E. Mariveskii**, I. A. Lubanskii, L. F. Zainullina [et al.] // Neurochemical Journal. – 2025. – Vol. 19, No. 4. – P. 891–901.

5. **Мариевский, В. Е.** Исследование антипаркинсонического действия комбинации ладастена с фабомотизолом на модели МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома / **В. Е. Мариевский**, И. А. Любанский, Л. Ф. Зайнуллина // Химико-фармацевтический журнал. – 2025. – Т. 59, № 10. – С. 10-15.

Тезисы докладов в материалах научных съездов и конференций

1. **Marievskii, V. E.** Fabomotizole recovers motor deficits in unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice / **V. E. Marievskii**, I. A. Kadnikov, L. F. Zainullina [et al.] // 34th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology: Abstract book, Montrael, Canada, 2023. – P. 174; P3.14.

2. **Мариевский, В. Е.** Изучение поведенческих и нейрохимических эффектов ладастена на модели паркинсонического синдрома *in vivo* / **В. Е. Мариевский**, И. А. Кадников, Л. Ф. Зайнуллина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11S. – С. 102.

3. **Мариевский, В. Е.** Ладастен уменьшает степень акинезии передней конечности мышей в модели паркинсонического синдрома *in vivo* / **В. Е. Мариевский**, И. А. Кадников, Л. Ф. Зайнуллина [и др.] // Достижения современной фармакологической науки: Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина и 80-летию Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, Рязань: Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, 2023. – С. 39-41.

4. **Мариевский, В. Е.** Изучение антипаркинсонической активности ладастена на модели паркинсонического синдрома *in vivo* / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина, И. А. Кадников [и др.] // Академический форум молодых ученых стран Большой Евразии «Континент науки»: Сборник тезисов докладов – Москва: Центр научно-технических решений, 2023. – С. 468-469.

5. **Мариевский, В. Е.** Место адамантанов в современной фармакотерапии болезни Паркинсона и изучение ладастена как потенциального антипаркинсонического лекарственного средства, являющегося производным адамантана / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина // Сборник тезисов докладов III Международная научно-практическая конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» – Томск: Изд-во СибГМУ, 2024. – С. 257-259.

6. **Мариевский, В. Е.** Ладастен снижает выраженность брадикинезии у мышей в модели паркинсонического синдрома *in vivo* / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина, И. А. Кадников [и др.] // Нейронаука для медицины и психологии: Материалы XX Международного междисциплинарного конгресса – Москва: ООО «МАКС Пресс», 2024. – С. 190-191.

7. **Мариевский, В. Е.** Ладастен снижает выраженность экстрапирамидной ригидности в модели паркинсонического синдрома *in vivo* / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина, И. А. Кадников [и др.] // Сборник тезисов докладов девятой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» – Сыктывкар, 2024. – С. 89.

8. **Мариевский, В. Е.** Ладастен снижает выраженность различных проявлений паркинсонического синдрома *in vivo* / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина, И. А. Кадников [и др.] // Сборник тезисов 27-й Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» – Пущино: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 2024. – С. 297.

9. **Мариевский, В. Е.** Комбинация ладастена с фабомотизолом снижает выраженность двигательных нарушений на модели паркинсонического синдрома, вызванного 6-гидроксидофамином / **В. Е. Мариевский**, Л. Ф. Зайнуллина // Сборник тезисов 28-й Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» – Пущино: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 2025. – С. 600-601.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БП – болезнь Паркинсона, 6-ГОДА – 6-гидроксидофамин, ДА – дофамин, ЛС – лекарственные средства, МФТП – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин, ПС – паркинсонический синдром, ПТ – полосатое тело, ЦНС – центральная нервная система, NQO2 – хинон-редуктаза 2, Sigma-1R – Sigma-1 рецептор.