

Калитин Константин Юрьевич

**НЕЙРОПСИХОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ И  
НЕКОНДЕНСИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА**

3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный консультант:**

**Спасов Александр Алексеевич** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Официальные оппоненты:**

**Оковитый Сергей Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Покровский Михаил Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

**Самотруева Марина Александровна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», г. Москва

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400066, Волгоград, пл. Павших борцов, зд. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (400066, Волгоград, пл. Павших Борцов, зд. 1) и на сайте [www.volgmed.ru](http://www.volgmed.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета 21.2.005.02,  
доктор медицинских наук, доцент

Шаталова Ольга Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Разработка медикаментозного лечения заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) остается ключевой задачей современной медицины (Gribkoff V.K., 2017). Заболевания ЦНС существенно снижают качество жизни, приводят к инвалидизации и преждевременной смерти. Статистические данные подтверждают не только глобальный характер проблемы, связанной с расстройствами ЦНС, но и неуклонную тенденцию к ее усугублению. Между 1990 и 2019 годами показатель потерянных лет жизни (DALY, disability-adjusted life year) из-за психических расстройств возрос с 80,8 миллиона до 125,3 миллиона (GBD 2019 Mental Disorders Collaborators, 2022). В 2017 году было зафиксировано 1,13 миллиона случаев шизофрении и 12,66 миллиона DALY (Castelpietra G. et al., 2022). Исследования показывают, что эпилепсия в настоящее время затрагивает более 46 миллионов человек в мире и приводит к более чем 13 миллионам DALY. Число случаев идиопатической эпилепсии увеличилось на 6,0% с 1990 по 2016 год (Beghi E., 2020).

Официальные ведомственные данные ЦНИИОИЗ Минздрава России согласуются с указанными тенденциями. В 2023 г. общая заболеваемость составила: по классу «психические расстройства и расстройства поведения» 5 765 811 случаев (3 937,1 на 100 000), по классу «болезни нервной системы» 8 625 878 случаев (5 890,1 на 100 000) (Деев И.А. и др., 2024, Ч. II, с. 36). Первично выявленная заболеваемость: 621 344 случая (424,3 на 100 000) по психическим расстройствам и 2 098 899 случаев (1 433,2 на 100 000) по болезням нервной системы (Деев И.А. и др., 2024, Ч. I, с. 34). Для эпилепсии общая зарегистрированная численность пациентов в 2023 г. составила 392 412 человек (268,0 на 100 000) (Деев И.А. и др., 2024, Ч. II, с. 38), а число случаев с впервые установленным диагнозом 38 279 (26,1 на 100 000) (Деев И.А. и др., 2024, Ч. I, с. 36).

Хотя за последние десятилетия разработано множество противосудорожных препаратов, около трети пациентов продолжают испытывать эпилептические приступы (Beghi E., 2020; Löscher W. et al., 2020). Шизофрения, несмотря на широкий выбор антипсихотических препаратов, остается хроническим расстройством, сложно поддающимся лечению, при этом около 20–30% пациентов проявляют терапевтическую резистентность (Correll C.U. et al., 2021; Siskind D. et al., 2022).

Учитывая значительные социальные и экономические потери, необходимость создания более эффективного фармакологического лечения сохраняет свою актуальность для расстройств психотического спектра (Симашкова Н.В., 2015; Read J., 2019), депрессии (Bschor T., 2016; Котова О.В. и др., 2021), эпилепсии (Народова Е.А. и др., 2018; Chen Z. et al., 2018), ПТСР (Merz J. et al., 2018) и болевого синдрома (Kessler A. et al., 2020). В контексте терапии заболеваний, сопровождающихся зудом, проблема недостаточной эффективности лекарственных средств также не решена (Lipman Z.M. et al., 2021). Зуд значительно ухудшает качество жизни пациентов, вызывая дискомфорт, нарушения сна и повышенную раздражительность.

В государственной программе правительства Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на главную позицию выдвинута подпрограмма 1 «Развитие производства лекарственных средств», в которой первоочередной задачей является разработка лекарственных средств для лечения социально значимых заболеваний, в том числе психоневрологических. Исследование согласуется с приоритетами государственной политики в сфере реализации программы ФАРМА-2030, одной из основных задач которой является создание и совершенствование условий для разработки инновационных лекарственных препаратов и медицинских изделий.

Одной из многообещающих групп соединений для поиска новых нейро- и психотропных препаратов являются производные бензимидазола. Они привлекли внимание ученых благодаря широкому спектру биологической активности. В частности, они

проявляют антипсихотические (Chino A. et al., 2019; Czopek A. et al., 2020; Al-Wasidi A.S. et al., 2021; Saini A. et al., 2023), противосудорожные (Brishty S.R. et al., 2021; Gajanan G. et al., 2021; Raghu M.S. et al., 2023; Shabana K. et al., 2023) и нейропротективные свойства (Imran M. et al., 2021; Anastassova N. et al., 2022; Vicente-Zurdo D. et al., 2023), что делает их перспективными кандидатами для разработки новых препаратов. Производные бензимидазола оказывают воздействие на различные нейротрансмиттерные системы мозга, такие как дофаминовая (Мальцев Д.В. и др., 2021), серотониновая (Черников М.В., 2015; Яковлев Д.С. и др., 2015) и ГАМК-ергическая системы (Агацарская Я.В. и др., 2019; Перфильев М.А., 2023), что подтверждает их высокий потенциал в терапии психоневрологических расстройств.

Таким образом, поиск и исследование новых соединений с нейропсихотропной активностью среди производных бензимидазола являются актуальными задачами современной медицины и фармакологии. Это направление включает в себя разработку новых обезболивающих, антипсихотических, противосудорожных, нейротропных и противозудных средств. Изучение механизмов действия конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола позволит не только глубже понять природу нейропсихотропной активности, но и открыть новые возможности для разработки более безопасных и эффективных лекарственных средств.

#### **Степень разработанности темы**

В лечении шизофрении наиболее широко используются препараты, воздействующие на дофаминовую и серотониновую системы. Среди них можно выделить такие атипичные антипсихотики, как клозапин, оланзапин, рисперидон, кветиапин и арипипразол (McCutcheon R.A. et al., 2020; Correll C.U. et al., 2022). Эти средства практически не вызывают экстрапирамидных нарушений и показали высокую эффективность в способности контролировать позитивные симптомы шизофрении, включая галлюцинации и бред (Клинические рекомендации РФ: «Шизофрения у взрослых», 2024), однако их влияние на негативные и когнитивные симптомы остается недостаточным (Magoney M., 2022), что существенно ограничивает возможности терапии психотических расстройств. Более того, атипичные антипсихотики часто вызывают такие побочные эффекты, как метаболические нарушения, увеличение массы тела (Балашова А.В. и др., 2023), сонливость (Stroup T.S., 2018) и проявляют кардиотоксические свойства (Насырова Р.Ф. и др., 2024).

Терапия эпилепсии направлена на подавление приступов и улучшение качества жизни пациентов (Лусникова И.В., 2022; Munaf Z.A., 2024). Базовый арсенал противоэпилептических препаратов (ПЭП) включает несколько поколений средств с различными механизмами действия, такими как блокирование потенциал-зависимых натриевых каналов (карбамазепин, ламотриджин), усиление ГАМК-ергической нейротрансмиссии (вальпроаты, бензодиазепины) и модуляция синаптического высвобождения нейромедиаторов (леветирацетам, бриварацетам) (Тадтаева З.Г. и др., 2023; Welty T.E. et al., 2024). Несмотря на это, ключевой проблемой остается фармакорезистентность, затрагивающая около 30% пациентов (Löscher W. et al., 2020), у которых приступы не удается контролировать даже при использовании двух и более адекватно подобранных ПЭП. Важно подчеркнуть, что большинство существующих на сегодняшний день ПЭП являются симптоматическими. Это определяет основное направление современных исследований: поиск соединений с антиэпилептогенными или болезнь-модифицирующими свойствами (French J.A. et al., 2021).

Коррекция болевого синдрома включает применение нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), таких как ибупрофен и диклофенак, и опиоидных анальгетиков (морфин, промедол, трамадол и др.) (Phillips J.K. et al., 2017). Несмотря на их широкое применение, НПВС обладают серьезными побочными эффектами, такими как гастро- и кардиотоксичность, что ограничивает их длительное использование (Lanas Á. et al., 2015; Bally M. et al., 2017). Опиоидные анальгетики, являясь «золотым стандартом» для

купирования выраженной боли, сопряжены с высоким риском развития толерантности, зависимости и угнетения дыхания. Их немедицинское применение привело к глобальному опиоидному кризису (Degenhardt L. et al., 2019; Bateman J.T. et al., 2023). Особую сложность представляет лечение хронической нейропатической боли, где стандартные анальгетики часто неэффективны. В связи с этим современные исследования направлены на поиск новых ненаркотических анальгетиков с инновационными механизмами действия (Bernatoniene J. et al., 2023).

В лечении зуда различной этиологии применяется широкий спектр противозудных средств, включая антигистаминные препараты первого и второго поколения, топические кортикостероиды, ингибиторы кальциневрина и лиганды опиоидных рецепторов (Lipman Z.M. et al., 2021). Несмотря на разнообразие доступных средств, лечение хронического зуда остается сложной задачей, так как существующие препараты не всегда обеспечивают достаточный контроль симптомов и могут вызывать нежелательные побочные эффекты. В частности, установлен противозудный эффект у каппа-опиоидных агонистов, однако аверсивные нежелательные явления ограничивают их применение (Inan S., 2020; Elmariah S. et al., 2022; Kim B.S. et al., 2022; Beck T.C. et al., 2023).

На сегодняшний день накоплен значительный объем данных, свидетельствующих о широком спектре биологической активности соединений с бензимидазольным ядром. В частности, для представителей данного класса установлено наличие нейропротекторного (Imran M. et al., 2021; Anastassova N. et al., 2022; Vicente-Zurdo D. et al., 2023), анксиолитического (Maryanoff B.E. et al., 1995; Nannapaneni D. et al., 2010; Mahajan B.S. et al., 2024), антипсихотического (Czopek A. et al., 2020; Al-Wasidi A.S. et al., 2021; Saini A. et al., 2023), анальгетического (Le A. et al., 2004; Achar K.C.S. et al., 2010; Idris Z. et al., 2019) и противосудорожного (Gajanan G. et al., 2021; Raghu M.S. et al., 2023; Shabana K. et al., 2023) действия. Высокий фармакологический потенциал некоторых из этих соединений послужил основанием для их внедрения в клиническую практику (Leucht S., 2005; Pringsheim T., 2009; Khokhar M.A., 2016). Вместе с тем, несмотря на существенный прогресс, достигнутый в области химии и фармакологии производных бензимидазола, степень изученности отдельных ключевых аспектов остается недостаточной. Так, одним из наименее исследованных вопросов являются молекулярные механизмы, лежащие в основе их фармакологического действия. Кроме того, не исчерпан потенциал для поиска новых высокоактивных агентов в ряду производных бензимидазола, что определяет актуальность как скрининга уже известных веществ, так и целенаправленного синтеза новых структур.

### **Цель исследования**

Поиск веществ, проявляющих нейропсихотропную активность, в ряду новых конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола, изучение их механизма действия и спектра фармакологических эффектов.

### **Задачи исследования**

1. Провести комплексную оценку структурного многообразия конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола с целью обоснования перспективности бензимидазольного кора в качестве многофункционального скаффолда для целенаправленного поиска новых соединений, обладающих нейропсихотропной активностью.
2. Осуществить многоэтапное исследование молекулярных механизмов взаимодействия потенциально активных производных бензимидазола с ключевыми биологическими мишенями с использованием комплекса вычислительных методов *in silico*, включающих QSAR, фармакофорное моделирование и молекулярный докинг, с целью прогнозирования их нейропсихотропной активности и последующего отбора наиболее перспективных соединений-лидеров для углубленного экспериментального изучения.
3. Провести детальное изучение анальгетического действия и нейрофизиологических механизмов его реализации для производных бензимидазола, проявляющих каппа-опиоидную агонистическую активность, с применением электрофизиологических

методов *ex vivo* и комплекса поведенческих тестов *in vivo*, а также оценить их потенциальные противозудные свойства.

4. Выявить и охарактеризовать атипичную антипсихотическую активность в ряду производных бензимидазола с установленным 5-НТ<sub>2А</sub>-антагонистическим профилем посредством оценки их нейрофизиологических механизмов действия и определения спектра фармакологической эффективности на валидных экспериментальных моделях психотических расстройств.
5. Осуществить целенаправленный поиск соединений с противосудорожными и нейропротективными свойствами среди ранее неисследованных производных бензимидазола, изучить их фармакологические механизмы и охарактеризовать спектр противосудорожной активности в экспериментальных моделях острой генерализованной, фокальной и хронической эпилепсии для определения их терапевтического потенциала.
6. Провести комплексную оценку нейротоксикологического профиля наиболее активных соединений-лидеров, выявленных в ходе исследования, с использованием батареи поведенческих тестов и автоматизированного анализа двигательной активности для установления их потенциального влияния на когнитивные функции и координацию движений.

#### **Научная новизна**

В рамках настоящего исследования была разработана и внедрена система целенаправленного поиска соединений с нейропсихотропной активностью среди новых конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола. Применение комплексного подхода, включающего методы биопотенциал-опосредованного анализа биоэлектрической активности мозга, а также современные технологии QSAR-моделирования и фармакофорного анализа, позволило впервые выявить ряд перспективных соединений с противозудной, антипсихотической, противосудорожной и нейропротективной активностью.

Новизну представляет усовершенствованный биопотенциал-опосредованный метод изучения нейропсихотропной активности, который, в комплексе с алгоритмами машинного обучения, позволяет эффективно дискриминировать различные классы психотропных веществ по их воздействию на биоэлектрическую активность мозга. Данный подход впервые был применен для анализа механизмов действия бензимидазольных производных, что открыло новые перспективы в исследовании их нейропсихотропных эффектов.

Впервые была показана смещенная агонистическая активность соединения РУ-1205 по отношению к каппа-опиоидным рецепторам, изучено его влияние на спайковую активность пирамидных нейронов миндалины методом patch-clamp с последующей оценкой анальгетических и противозудных свойств. Установлены структуры головного мозга, вовлеченные в реализацию анальгетического действия. Полученные результаты подтверждают, что соединение РУ-1205 является перспективным кандидатом для дальнейших исследований в области разработки обезболивающих и противозудных средств.

Кроме того, впервые была выявлена атипичная антипсихотическая активность у производных бензимидазола с 5-НТ<sub>2А</sub> антагонистической активностью, что подтверждено с помощью *in silico* методов, а также поведенческих и электрофизиологических исследований на животных моделях психотических расстройств. Соединение РУ-31 продемонстрировало способность восстанавливать нарушенные поведенческие и когнитивные функции, что подтверждает его потенциал в лечении психозов.

В ходе исследования впервые были выявлены противосудорожные и нейропротективные свойства соединения ВIF-72, которое проявило высокую активность на моделях эпилептогенеза и нейровоспаления, вызванного липополисахаридом. Соединение ВIF-72 также продемонстрировало способность подавлять образование оксида азота и снижать площадь инфаркта при ишемии мозга. Это открывает новые возможности для

применения производных бензимидазола в терапии неврологических расстройств, в том числе с нейродегенеративным компонентом.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Результаты исследования имеют высокую научно-практическую значимость для разработки новых лекарственных средств с нейрпсихотропной активностью, направленных на лечение психоневрологических расстройств, таких как шизофрения, эпилепсия, а также заболеваний, сопровождающихся болью.

Показана целесообразность поиска нейрпсихотропных веществ среди производных бензимидазола. Построенные QSAR- и фармакофорные модели позволяют выделять структурные признаки, ассоциированные с фармакологической активностью, и могут применяться для виртуального скрининга, приоритизации и направленной оптимизации производных бензимидазола. Разработанная база данных систематизирует сведения о производных бензимидазола и может использоваться как источник химико-фармакологической информации при отборе новых соединений и формировании обучающих выборок для прогностических моделей.

Применение биопотенциал-опосредованного подхода в сочетании с алгоритмами машинного обучения открывает новые перспективы для ранней идентификации специфической нейрпсихотропной активности химических соединений, что может существенно сократить время и затраты на доклинические исследования новых средств.

Выявленные в ходе исследования соединения РУ-1205, РУ-31 обладают значительным терапевтическим потенциалом и могут стать основой для создания новых препаратов с каппа-опиоидной и антипсихотической активностью, отличающихся улучшенным профилем безопасности по сравнению с существующими средствами. Кроме того, соединение ВIF-72 продемонстрировало противосудорожные и нейропротективные свойства, что делает его перспективным кандидатом для болезнь-модифицирующей терапии эпилепсии и заболеваний, сопровождающихся нейровоспалением.

Настоящее исследование согласуется с актуальной проблематикой нейрофармакологии и нейронауки в целом. Усилия, направленные на сбор и обработку данных, разработку алгоритмов поиска нейротропных средств центрального действия и математических моделей, а также экспериментальные исследования влияния соединений с нейро- и психотропной активностью на функции центральной нервной системы будут способствовать расширению теоретических знаний в области биоинформатики, медицинской химии и фармакологии.

Результаты исследования применимы для решения конкретных проблем здравоохранения.

### **Методология и методы исследования**

Исследование проводилось на базе Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, с использованием современных методов машинного обучения, QSAR-моделирования, фармакофорного анализа, молекулярного докинга и динамики для *in silico* изучения механизмов нейрпсихотропной активности производных бензимидазола.

В ходе изучения механизма действия производного бензимидазола с каппа-опиоидной агонистической активностью (РУ-1205) применялся биопотенциал-опосредованный подход, включающий спектральный и когерентный анализ сигналов мозговой активности, анализ фазовой задержки. Также использовались алгоритмы машинного обучения для построения классификаторов сигналов, спайковая активность нейронов изучалась методом patch clamp. Изучение аналгетических свойств выполнено путем локальных микроинъекций вещества в целевые структуры мозга. Противозудные свойства соединения оценивались на моделях острого нейрогенного зуда, вызванного серотонином, и хронического иммуногенного зуда в модели «сухой кожи».

Исследование атипичной антипсихотической активности 5-НТ<sub>2А</sub>-антагонистов среди производных бензимидазола включало биопотенциал-опосредованную оценку

эффектов соединения РУ-31. Кластеризация сигналов LFP (Local Field Potentials), регистрация мембранных токов нейронов и нейрофармакологический анализ с использованием моделей взаимодействия с галоперидолом, пикротоксином и апоморфином позволили изучить механизмы действия. Поведенческие тесты на моделях психотических расстройств использовались для оценки антипсихотической активности соединения РУ-31.

Противосудорожная активность исследуемых соединений изучалась с помощью *in silico* методов, анализа биопотенциалов и тестов, основанных на различных моделях судорог (максимальный электрошок, коразоловые судороги, пенициллиновая модель). Хроническую эпилепсию моделировали с помощью пилокарпина и длительного введения коразола. Изучение механизмов противовоспалительного и нейропротективного действия ВІF-72 проводилось на моделях нейровоспаления и окклюзии средней мозговой артерии. Были использованы биохимические методы для оценки образования оксида азота, а также жизнеспособности клеток по уровню ЛДГ.

Для поведенческих исследований на здоровых животных применялись автоматизированные методы анализа с технологиями компьютерного зрения, а также классические методы оценки когнитивных функций.

#### **Реализация результатов исследования**

Разработанная методология поиска и изучения соединений с потенциальной нейропсихотропной активностью внедрена в научно-исследовательскую работу Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, включена в учебно-методический процесс на кафедрах фармакологии и биоинформатики, фармацевтической, токсикологической химии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России.

Полученные данные о взаимосвязи структура-активность исследованных соединений используются в направленном синтезе новых химических структур в лаборатории органического синтеза Научно-исследовательского института физической и органической химии Южного федерального университета.

Исследования, изложенные в работе, частично финансированы Грантом ВолГМУ №155 «Оригинальный метод полимодальной оценки фармакологического действия психотропных веществ, основанный на декодировании электрофизиологических паттернов нервной активности с помощью искусственных нейронных сетей и глубокого машинного обучения». РФФИ № 24-25-20154 «Роль инфламмосомы NLRP3 как мишени терапии инсулинорезистентности и иммунометаболических нарушений».

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Конденсированные и неконденсированные производные бензимидазола представляют собой перспективную основу для поиска и разработки новых средств с нейропсихотропной активностью, что подтверждается их способностью связываться с различными нейрональными рецепторами, изменять электрофизиологическую активность мозга и проявлять широкий спектр фармакологических эффектов, включая обезболивающую, антипсихотическую, противосудорожную и нейропротективную активности.
2. Биопотенциал-опосредованный подход к изучению нейропсихотропных свойств соединений, основанный на анализе биоэлектрической активности мозга с применением алгоритмов машинного обучения, является гибким и многоцелевым инструментом доклинических исследований, позволяющим прогнозировать механизм действия и терапевтический потенциал веществ на ранних этапах разработки.
3. Соединение РУ-1205 проявляет косвенные признаки G-белок-смещенного агонизма в отношении каппа-опиоидного рецептора, что было подтверждено характерными конформационными изменениями трансмембранных доменов ТМ6 и ТМ7 при моделировании взаимодействия с рецептором, а также электрофизиологическими и поведенческими методами. Для соединения РУ-1205 показаны нейротропные противозудные эффекты, выявленные в моделях острого и хронического зуда.

Установлены ключевые структуры, вовлеченные в анальгетический эффект вещества: околоводопроводное серое вещество, а также в меньшей степени большое ядро шва и миндалевидное тело.

4. Соединение РУ-31, обладающее 5-HT<sub>2A</sub> антагонистическим механизмом действия, проявляет атипичную антипсихотическую активность и, в отличие от традиционных нейролептиков, имеет более безопасный фармакологический профиль, что подтверждено результатами поведенческих исследований на моделях психотических расстройств и электрофизиологическими данными, указывающими на его способность модулировать серотонинергическую систему в головном мозге.
5. Соединение VIF-72 обладает выраженными нейропротективными и болезнью-модифицирующими антиэпилептогенными эффектами, изменяя течение эпилепсии, что проявляется в моделях эпилептогенеза снижением тяжести судорог, увеличением выживаемости нейронов в условиях нейровоспаления, сокращением зоны инфаркта и улучшением двигательных функций при ишемии, а также отсутствием значительных цитотоксических и побочных эффектов, что делает его перспективным кандидатом для разработки новых противоэпилептических препаратов.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность и обоснованность результатов подтверждается массивом экспериментальных данных, полученных с применением передовых методов и подходов, релевантных поставленным исследовательским задачам. Заключение, сформулированные в диссертации, корреспондируют с данными научной литературы.

Ключевые аспекты диссертационного исследования были представлены, подвергнуты всестороннему обсуждению и получили признание на следующих научно-практических конференциях: 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «MedChem-Russia 2022» (г. Волгоград, 2022), LXXXIII научно-практической конференции с международным участием, посвященной 125-летию юбилею ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины - 2022» (г. Санкт-Петербург, 2022), XXIV съезде физиологического общества им. И. П. Павлова (г. Санкт-Петербург, 2023), на 9th international electronic conference on medicinal chemistry, Sciforum by MDPI, III научно-образовательном форуме "Всероссийская научная школа "Медицина молодая" (г. Москва, 2023), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Учение академика И.П. Павлова в современной системе нейронаук" (г. Санкт-Петербург, 2024), Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения выдающегося отечественного фармаколога, академика АМН СССР Артура Викторовича Вальдмана (г. Санкт-Петербург, 2024).

По теме диссертации опубликовано 26 печатных работ, из них 13 в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 2 учебных пособия. Получено 1 свидетельство о регистрации базы данных и 2 свидетельства о регистрации программы для ЭВМ.

#### **Личный вклад автора**

Автор самостоятельно определил актуальную научную проблему и подготовил план исследования для ее решения. Автором разработана оригинальная методология поиска новых нейропсихотропных соединений, включающая биопотенциал-опосредованный подход в комплексе с компьютерной обработкой на этапе предварительного анализа соединений. Разработана электронная база данных о производных бензимидазола. Автор принимал активное участие во всех этапах экспериментальных работ. Автором проведены статистический анализ и интерпретация результатов, что обеспечило формулирование обоснованных выводов и рекомендаций по дальнейшему изучению производных бензимидазола в фармакологии. Информационной основой исследования послужил глубокий анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме

нейропсихотропных соединений. Результаты исследования получили отражение в научных публикациях автора, подготовленных и опубликованных в рецензируемых изданиях.

### **Структура и объем работы**

Диссертация изложена на 286 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, перечня сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 93 рисунками и содержит 30 таблиц. Библиографический указатель включает 470 источников, из них 51 отечественных, 419 иностранных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**В первой главе** представлен обзор современной научной литературы, в котором обоснована актуальность разработки новых нейропсихотропных средств. Подчеркивается высокая медико-социальная значимость заболеваний центральной нервной системы (психозов, эпилепсии, хронической боли), терапия которых осложняется недостаточной эффективностью и безопасностью применяемых в клинической практике препаратов. Рассмотрены современные подходы к разработке лекарственных средств, включая молекулярное моделирование и применение методов машинного обучения для анализа биоэлектрической активности мозга (биопотенциал-опосредованный подход). Детально проанализированы ключевые фармакологические мишени. Литературные данные позволяют утверждать, что перспективными для терапии боли и зуда являются G-белок-смещенные агонисты каппа-опиоидных рецепторов (КОР), не вызывающие характерных дисфорических эффектов. Для лечения шизофрении отмечен высокий потенциал использования антагонистов 5-НТ<sub>2А</sub>-рецепторов, способных корректировать психотическую симптоматику без развития экстрапирамидных нарушений, при эпилепсии обоснована необходимость поиска болезнь-модифицирующих препаратов. Особое внимание уделено бензимидазольному ядру, признанному «привилегированной структурой» в медицинской химии. Приведены данные о способности производных бензимидазола взаимодействовать с ГАМК-ергическими, глутаматными, дофаминовыми, серотониновыми и опиоидными рецепторами, проявляя выраженные анальгетические, антипсихотические, противосудорожные и нейропротективные свойства. На основе анализа предшествующих работ сделан вывод о необходимости комплексного систематического исследования обширной библиотеки производных бензимидазола с целью выявления высокоактивных соединений-лидеров.

**Во второй главе** изложены материалы и методы исследования. Объектами исследования *in silico* послужили 2443 конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола<sup>1</sup>. Эксперименты *in vivo* выполнены на 518 белых беспородных мышках-самцах и 966 крысах обоего пола с соблюдением этических требований и правил европейской конвенции о защите позвоночных животных.

Прогнозирование нейропсихотропной активности осуществлялось с применением комплекса биоинформационных методов. Проведено сетевое моделирование химического пространства (расчет коэффициента Танимото, алгоритм Force Atlas 2), а также QSAR-моделирование каппа-агонистической и 5-НТ<sub>2А</sub>-антагонистической активности с применением алгоритмов машинного обучения (Random Forest, нейронные сети) и оценка ADME-T параметров (SwissADME). Выполнен фармакофорный анализ (Schrödinger Maestro), предсказание карманов связывания с помощью 3D-сверточных нейронных сетей (DeepSite), гибкий молекулярный докинг (Induced Fit Docking) и моделирование молекулярной динамики (100-300 нс) в мембранном окружении для оценки стабильности белок-лигандных комплексов.

---

<sup>1</sup> Выражается признательность коллективу НИИ ФОХ ЮФУ за синтез и предоставление информации о химических структурах исследуемых соединений.

Разработан и применен оригинальный биопотенциал-опосредованный подход для оценки нейро- и психотропного действия. Осуществлялась регистрация электрокортикограммы (ЭКоГ) и локальных полевых потенциалов (LFP) из глубоких структур мозга (медиальная префронтальная кора, миндалина, гиппокамп, прилежащее ядро, вентральная область покрышки). Обработка электрофизиологических данных включала спектральный, когерентный анализ и расчет взвешенного индекса фазовой задержки (wPLI). Для классификации сигналов и прогнозирования фармакодинамического профиля применялись алгоритмы машинного обучения: автоэнкодеры на базе сверточных нейронных сетей (CNN) и классификаторы на основе гауссовских процессов (GPC). На основе параметров LFP построены регрессионные модели прогноза аверсивной активности. Оценка влияния соединений на ионные токи пирамидных нейронов миндалины и префронтальной коры проводилась методом локальной фиксации потенциала (patch-clamp) на срезах мозга.

Исследования *in vitro* включали оценку каппа-опиоидной агонистической активности на модели активации тромбоцитов методом малоуглового светорассеяния, а также анализ противовоспалительных и цитотоксических свойств на культуре перитонеальных макрофагов мышей (оценка продукции оксида азота методом Грисса и жизнеспособности клеток по уровню лактатдегидрогеназы).

Для комплексного фармакологического профилирования использована батарея поведенческих тестов *in vivo*. Анальгетическое действие оценивалось в тестах «отдергивание хвоста», формалиновом тесте и тесте фон Фрея после локальных микроинъекций в целевые структуры мозга. Изучение рецепторных механизмов действия включало тесты фармакологического взаимодействия с галоперидолом, пикротоксином, клонидином, ареколином, 5-гидрокситриптофаном, L-ДОФА и апоморфином. Для оценки когнитивных функций, сенсомоторного гейтинга и моторной координации применялись Т-образный лабиринт, тест препульсового ингибирования (PPI), «вращающийся стержень» и удержание на сетке. Аверсивные свойства изучались в установке условнорефлекторного избегания места (УРИМ), дискриминативные стимульные свойства оценивались в камере Скиннера с внутримозговой электростимуляцией. Для высокоточного анализа паттернов поведения в «открытом поле» применялись алгоритмы компьютерного зрения с автоматическим трекингом поз (SLEAP, Keypoint MoSeq).

Терапевтический потенциал соединений-лидеров валидирован на экспериментальных моделях патологических состояний, включая зуд (индуцированный серотонином, а также модель «сухой кожи»), расстройства психотического спектра (неонатальное разрушение вентрального гиппокампа, кетаминовая модель, модель материнской иммунной активации ЛПС), эпилепсию (максимальный электрошок, коразоловые, пенициллиновые и пилокарпиновые судороги, коразоловый киндлинг). Нейропротективные свойства изучались на модели обратной окклюзии средней мозговой артерии (с оценкой неврологического дефицита по шкале Гарсия и ТФТ-окрашиванием зоны инфаркта) и на модели ЛПС-индуцированного нейровоспаления на срезах гиппокампа.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism, Python (scikit-learn) и MATLAB. Применялись методы параметрической (ANOVA с пост-тестами Даннета или Тьюки) и непараметрической статистики (критерии Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни), точный тест Фишера, а также методы нелинейной регрессии. Для снижения размерности и визуализации многомерных данных использовались метод главных компонент (PCA) и алгоритм UMAP.

**В третьей главе** представлены результаты исследования взаимодействия производных бензимидазола с КОР, а также оценка их анальгетического, противозудного и нейропсихотропного профилей. Первичный виртуальный скрининг 2443 конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола проводился с учетом уровня каппа-агонистической активности *in vitro*, отсутствия структурных маркеров

токсичности, соответствия правилам Липински, прогноза проницаемости через гематоэнцефалический барьер и индекса CNS MPO, в результате чего было отобрано 10 перспективных соединений. Визуализация химического пространства и выявление структурных кластеров осуществлялись путем сетевого моделирования на основе расчета коэффициентов Танимото с применением алгоритма Force Atlas 2.

Построена шестифункциональная (ADHRR) фармакофорная модель на основе комплекса KOP с налфурафином (PDB ID: 6B73), которая включала один акцептор водородной связи, один донор водородной связи, два гидрофобных участка и два ароматических кольца (рисунок 1). Наивысшую степень соответствия модели продемонстрировало соединение РУ-1205 (9-(2-морфолиноэтил)-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2-а]бензимидазол) с максимальным показателем Fitness Score 1,585 (4 совпадающих участка). Для соединений РУ-1204, РУ-1197 и РУ-1196 (по 3 совпадающих участка) Fitness Score был равен 1,349, 1,453 и 1,342 соответственно.

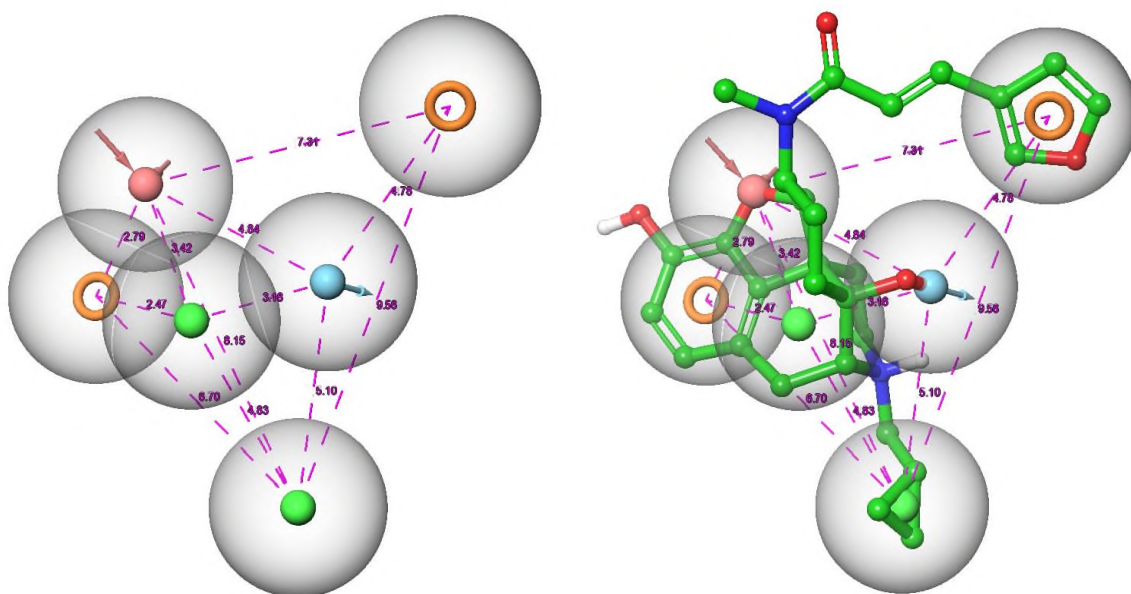


Рисунок 1 – Фармакофорная модель комплекса KOP и налфурафина, основанная на структуре комплекса рецептор-лиганд, с шестью признаками: один акцептор водородной связи (красная сфера), один донор водородной связи (синяя сфера), два гидрофобных участка (зеленые сферы), два ароматических кольца (оранжевые кольца)

Методом гибкого молекулярного докинга (Induced Fit Docking) установлено образование комплекса соединения РУ-1205 с KOP (docking score  $-12,006$  ккал/моль), стабилизация которого обеспечивается формированием солевого мостика с остатком ASP138, водородных связей с GLN115, ASP138 и SER211, а также  $\pi$ -стэкинг взаимодействием с TYR139 (рисунок 2).

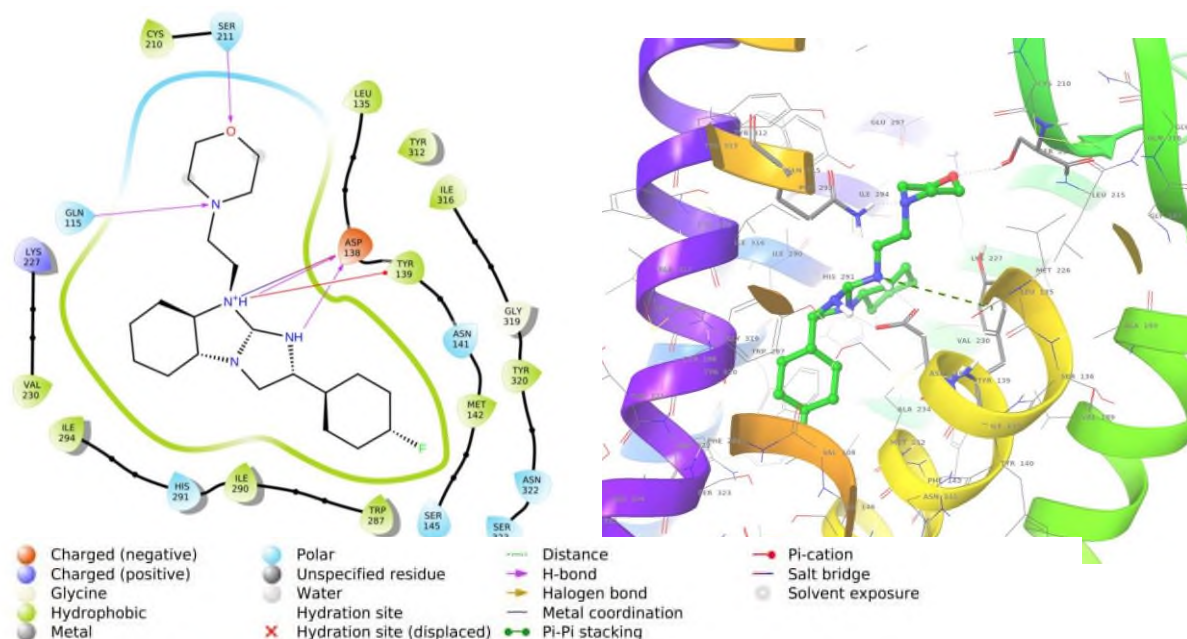


Рисунок 2 – Гибкий докинг соединения PY-1205 в каппа-опиоидный рецептор (Induced Fit Docking, energy window: 2,5 kcal/mol; Van der Waals scaling 0,5; residues refining distance: 5 Å). Установлено взаимодействие с TM5–ECL2, характерное для смещенных агонистов

Моделирование молекулярной динамики (300 нс) в фосфолипидном бислое подтвердило устойчивость комплекса КОР/PY-1205. В ходе симуляции зафиксированы конформационные перестройки, типичные для функциональных агонистов. Значения среднеквадратичной флуктуации (RMSF) отражают различия в локальной подвижности трех участков рецептора, один из которых играет важную роль в рекрутировании  $\beta$ -аррестина. Динамика данных участков в комплексах КОР/PY-1205 (рисунок 3) и КОР/налфурафин отличалась от показателей сбалансированного агониста U-50488, что служит дополнительным обоснованием G-белок-смещенного профиля соединения PY-1205.

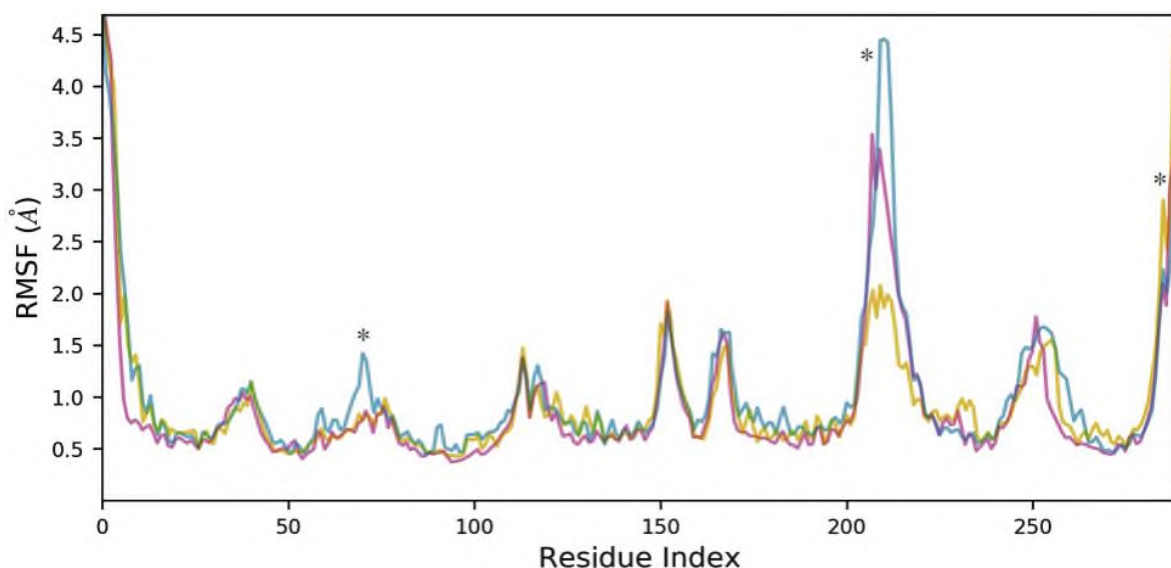


Рисунок 3 – Среднеквадратичная флуктуация (RMSF), характеризующая локальную подвижность комплекса каппа-опиоидного рецептора и лигандов (PY-1205 – голубым цветом, налфурафин – желтым цветом и U-50488 – розовым цветом) в течение 300 нс  
Примечание: \* - максимальные различия по сравнению с U-50488.

В ходе электрофизиологических исследований изучена специфичность действия соединения РУ-1205 на центральную нервную систему. Спектральный анализ локальных полевых потенциалов после интрацеребровентрикулярного введения соединения РУ-1205 (350 мкг) выявил избирательное усиление тета-активности во фронтальной, париетальной и медиальной префронтальной коре наряду со снижением гамма-активности, без достоверных изменений в прилежащем ядре, вентральной области покрышки и миндалине. КОР-агонист U-50488 (100 мкг) вызывал диффузное усиление дельта- и тета-ритмов со снижением бета- и гамма-активности в коре, а также повышение тета- и гамма-активности в миндалине. При проведении когерентного анализа в тета-диапазоне показано, что U-50488 снижает коннективность между корой, гиппокампом и прилежащим ядром, а также усиливает связи с миндалинным телом, что коррелирует с развитием аверсии. Блокатор МАРК р38 SB203580 (1 мкг) изолированно снижал связность между гиппокампом и миндалиной. Соединение РУ-1205 оказывало эффекты схожие с веществом U-50488, при этом не вызывало усиления связи с миндалиной и не воспроизводило профиль SB203580. Анализ взвешенного индекса фазовой задержки методом главных компонент (две первые компоненты объяснили 58,32% дисперсии) с последующим применением гауссовских процессов показал, что соединение РУ-1205 с вероятностью от 89,44% до 92,25% не обладает центральной МАРК р38-ингибирующей активностью (рисунок 4).

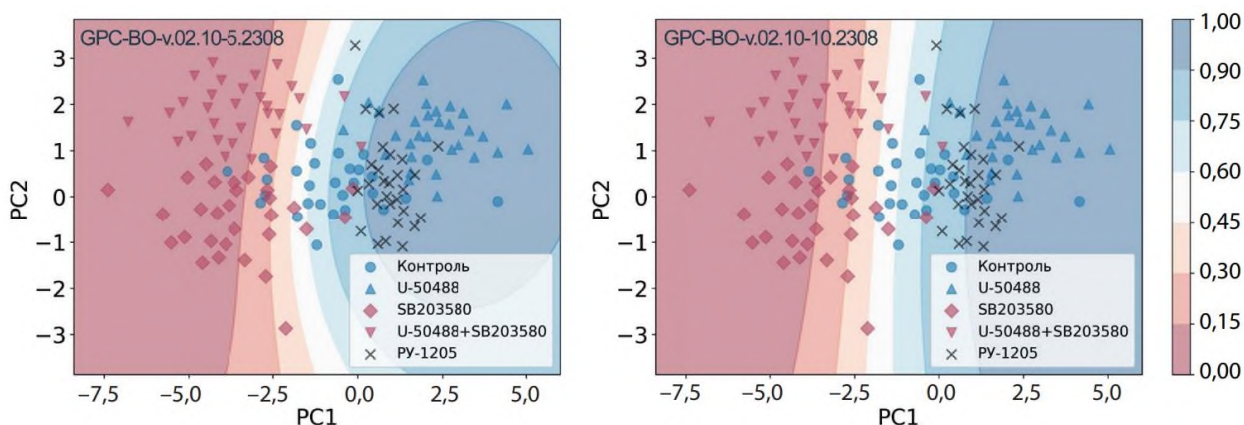
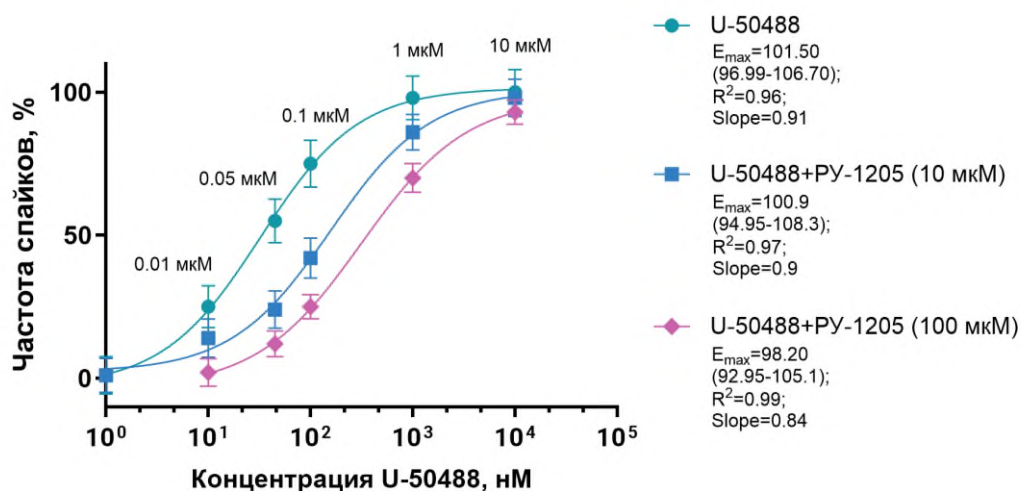


Рисунок 4 – Карты принятия решений, построенные на основе «Gaussian Process Classifier» (scikit-learn). Красным цветом отмечены «ингибиторы» МАРК р38 – группы «SB203580» и «SB203580 + U-50488»; синим цветом отмечены «не ингибиторы» МАРК р38 – группа «контроля», группа «U-50488»; черным цветом отмечены прогнозные координаты для сигналов группы «РУ-1205». Средняя вероятность принадлежности сигналов после введения РУ-1205 к классу «не ингибиторы»: 0,922584 и 0,894469 для моделей «GPC-BO-v.02.10-5.2308» (слева) и «GPC-BO-v.02.10-10.2308» (справа)

Исследование мембранных токов пирамидных нейронов базолатеральной миндалины методом patch-clamp в конфигурации “whole-cell” показало, что аппликация U-50488 (0,01–10 мкМ) дозозависимо увеличивает спайковую активность. Совместная перфузия U-50488 с РУ-1205 (10 и 100 мкМ) вызывала правосторонний сдвиг кривой «доза-эффект» с сохранением плато максимального ответа, что интерпретировали как конкурентный антагонизм. Сочетанное применение U-50488 с SB203580 (1 и 5 мкМ) изменяло наклон кривой и снижало максимальный эффект (неконкурентное взаимодействие; рисунок 5). Показано, что РУ-1205 блокирует U-50488-индуцированное усиление спайковой активности за счет конкурентного связывания с КОР, предотвращая реализацию аррестин-опосредованных аверсивных сигналов. В модели дискриминации стимула крысы, обученные распознавать РУ-1205 (350 мкг, и.ц.в.; точность 89,44%), генерализовали стимул на U-50488 с уровнем замещения 75,56% (100 мкг), 55,34% (10 мкг) и 31,11% (1 мкг) ( $p < 0,0001$ ). Группа, обученная дифференцировать комбинацию SB203580 (1 мкг) и налоксона (200 мкг), не демонстрировала генерализации при введении РУ-1205,

что подтверждает КОР-опосредованный механизм развития субъективных эффектов РУ-1205.

### Эффект U-50488 + РУ-1205



### Эффект U-50488 + SB203580

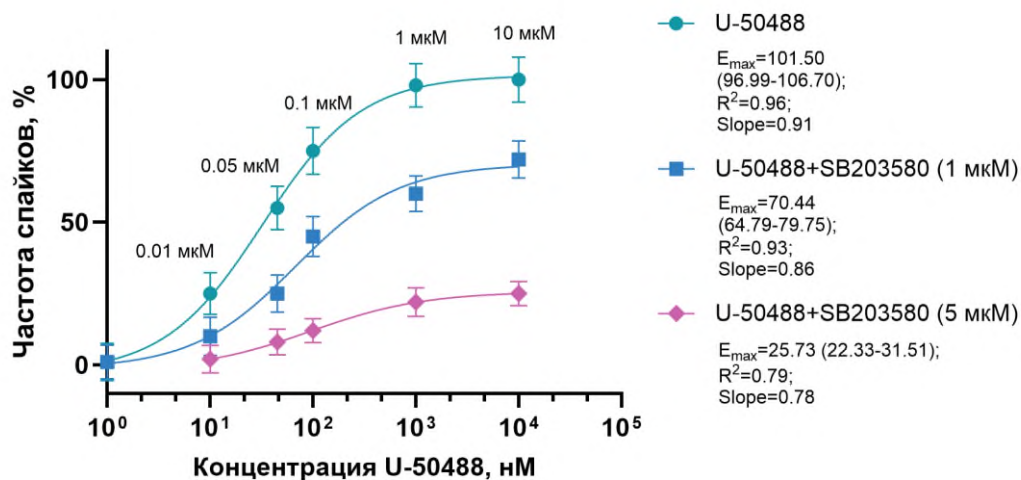


Рисунок 5 – Дозозависимые эффекты соединения U-50488 на спайковую активность пирамидных нейронов миндалины в комбинации с соединением РУ-1205 (верхний график, концентрация РУ-1205: 0, 10, 100 мкМ) и веществом SB203580 (нижний график, концентрация SB203580: 0, 1, 5 мкМ)

*Примечание:* данные представлены как  $M \pm SEM$ .

После билатеральных микроинъекций U-50488 (1,6 мкг) и РУ-1205 (5,6 мкг) в околосеротониновое серое вещество (PAG) развивалась выраженная анальгезия, наблюдали статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение латентного периода в тесте отдергивания хвоста, подавление ноцицепции в формалиновом тесте и рост порога чувствительности в тесте фон Фрея. Инъекции в большое ядро шва (NRM) подавляли термическую и химическую боль ( $p < 0,05$ ) без достоверного изменения порога механической чувствительности. При введении в базолатеральную миндалину регистрировали анальгезию в острой фазе формалинового теста ( $p < 0,05$ ). Микроинъекции в гиппокамп и прилежащее ядро не изменяли болевую чувствительность. Показано, что анальгетическое действие соединений РУ-1205 и U-50488 реализуется преимущественно через нисходящую антиноцицептивную систему с участием PAG и NRM.

При моделировании острого нейрогенного зуда, индуцированного внутривенным введением серотонина (0,5 мг), соединение РУ-1205 в дозе 5 мг/кг (в/б) вызывало

выраженное подавление пруритогенной реакции. Установлено статистически значимое снижение медианы частоты приступов чесания с 28,5 эпизодов в контрольной группе до 7,0 эпизодов в опытной (Q1;Q3 [3,0; 22,0],  $p < 0,05$ ). Применение эталонного каппа-агониста U-50488 в эквивалентной дозе приводило к сопоставимому снижению данного показателя до 9,0 эпизодов. В условиях экспериментальной модели хронического зуда (модель «сухой кожи»), на 8-е сутки развития патологического процесса, введение соединения РУ-1205 сопровождалось угнетением спонтанного чесания. Установлено статистически значимое снижение медианы числа эпизодов зуда с 64,5 в контрольной группе до 41,0 в опытной группе ( $p < 0,05$ ). Референсное вещество U-50488 также демонстрировало выраженную противозудную активность, снижая медиану приступов до 24,5 ( $p < 0,05$ ).

На этапе проведения автоматизированного анализа поведения крыс в «открытом поле» (SLEAP, Keypoint MoSeq) оценивали 10 поведенческих паттернов. Референсный каппа-агонист буторфанол (2,5 и 5 мг/кг) дозозависимо подавлял быстрые поступательные движения и вертикальные стойки ( $p < 0,0001$ ), увеличивая время груминга ( $p < 0,0001$ ) и стереотипных круговых перемещений ( $p < 0,01$ ). Соединение РУ-1205 (5 мг/кг) не угнетало локомоторную и исследовательскую активность ( $p > 0,05$ ), вызывая лишь рост частоты стереотипного обнюхивания. В дозе 10 мг/кг вещество умеренно угнетало часть исследовательских паттернов ( $p < 0,01$ ), не влияя на частоту вертикальных стоек и не провоцируя патологический груминг. В тесте спонтанного чередования (Т-лабиринт) контрольный показатель составил 71,65% (таблица 1). Вещество РУ-1205 (10 и 20 мг/кг) снижало процент чередований до 64,35% и 61,55% соответственно ( $p > 0,05$ ). Буторфанол нарушал рабочую память, снижая показатель до 56,20% и 50,15% ( $p < 0,005$ ).

Таблица 1 – Влияние вещества РУ-1205 (10 и 20 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) и буторфанола (2,5 и 5 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) на рабочую память в тесте спонтанного чередования в Т-образном лабиринте

Группа (n = 10)	Доза, мг/кг	%СЧ, Ме [Q1;Q3]
Контроль (растворитель)	–	71,65 [62,40;76,18]
РУ-1205	10	64,35 [51,15;73,83]
РУ-1205	20	61,55 [48,30;66,28]
Буторфанол	2,5	56,20 [51,10;62,30]
Буторфанол	5	50,15 [43,23;56,45]*

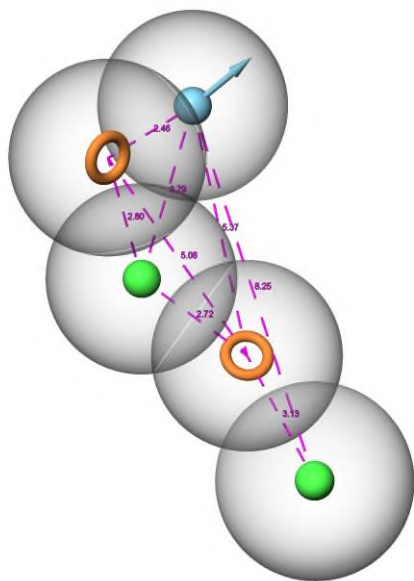
*Примечание:* \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса с апостериорным тестом Данна).

**В четвертой главе** представлены результаты исследования атипичной антипсихотической активности 5-HT<sub>2A</sub>-антагонистов в ряду производных бензимидазола. На первом этапе применялось QSAR-моделирование 5-HT<sub>2A</sub>-антагонистической активности с использованием обучающей выборки из 2382 соединений, извлеченных из баз данных ChEMBL и RU2023624590. Построение моделей осуществлялось на основе алгоритмов множественной линейной регрессии, частичных наименьших квадратов, опорных векторов, случайного леса и нейронных сетей с оценкой средней абсолютной ошибки и коэффициента детерминации. Наивысшую производительность

продемонстрировала нейросетевая модель со средней абсолютной ошибкой 1,405 на тестовой и 1,920 на валидационной выборках при коэффициентах детерминации 0,92 и 0,85 соответственно. Прогнозирование активности 391 соединения из целевой библиотеки позволило выявить три наиболее перспективных вещества: РУ-31, РУ-30 и РУ-204. Прогнозные значения IC<sub>50</sub> для соединения РУ-31 находились в диапазоне 0,062–0,067 мкМ при экспериментально подтвержденном значении 0,044 мкМ. Для соединения РУ-30 прогноз составил 0,074–0,081 мкМ (экспериментальное 0,069 мкМ), а для соединения РУ-204 0,164–0,167 мкМ (экспериментальное 0,15 мкМ). Несмотря на незначительное завышение прогнозных значений (максимальное отклонение до 0,023 мкМ для вещества РУ-31), алгоритмы успешно ранжировали молекулы по уровню биологической активности.

Фармакофорный скрининг включал в себя создание пятифункциональной модели DHRR (донор водородной связи, два гидрофобных участка, два ароматических кольца; рисунок 6) на основе кристаллографического комплекса 5-HT<sub>2A</sub>-рецептора с зотепином (PDB ID: 6A94). Соединение РУ-31 показало наивысшую степень соответствия: три совпадающих участка, Align Score 0,795, Vector Score 0,828, Volume Score 0,231 и итоговый Fitness Score 1,013. Вещество РУ-30 имело Fitness Score 0,989 при трех совпадающих участках, а соединение РУ-204 продемонстрировало низкую комплементарность с Fitness Score 0,208 и двумя совпадающими участками.

А



Б

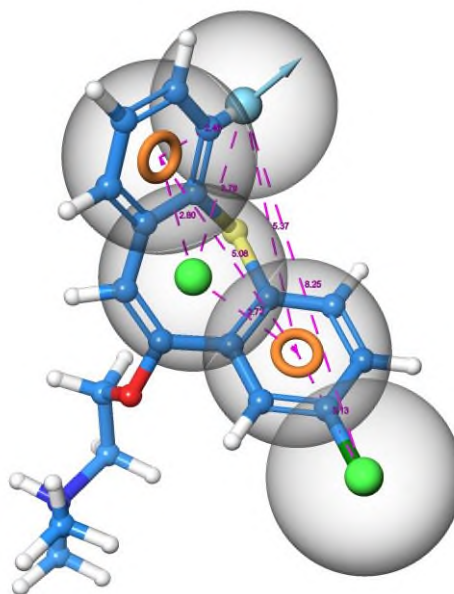


Рисунок 6 – А. Фармакофорная модель антагонистического взаимодействия с 5-HT<sub>2A</sub> рецептором, основанная на структуре комплекса рецептор-лиганд, с пятью признаками: один донор водородной связи (синяя сфера), два гидрофобных участка (зеленые сферы) и два ароматических кольца (оранжевые кольца). Расстояние между фармакофорными признаками отмечено в ангстремах. Б. Фармакофорная модель с наложенным зотепином

Методом гибкого молекулярного докинга показано, что лиганды занимают нижнюю часть связывающего кармана между трансмембранными спиралями ТМ4 и ТМ5. Третичный азот диэтиламиноэтильного радикала образует консервативный солевой мостик с остатком ASP155, причем соединение РУ-30 дополнительно формирует с ним водородную связь. Бензольные фрагменты молекул вступают в π-π стэкинг взаимодействие с TRP336 и PHE340, а имидазольное кольцо соединений РУ-31 и РУ-204 дополнительно

взаимодействует с RHE340. Расчетная энергия связывания составила  $-11,203$  ккал/моль для соединения РУ-30,  $-11,087$  ккал/моль для соединения РУ-31 и  $-10,569$  ккал/моль для соединения РУ-204. Для оценки стабильности комплексов проводилась 100-нс симуляция молекулярной динамики. RMSD основной цепи белка в комплексе с соединением РУ-30 варьировалось в пределах  $2,4-3,0$  Å, при этом среднее значение RMSD лиганда составило  $1,25$  Å. Для комплекса с соединением РУ-31 отклонение  $S\alpha$ -атомов белка находилось на уровне  $2,5$  Å с кратковременным ростом значений до  $4,16$  Å в интервале  $40-52$  нс, структура лиганда оставалась стабильной ( $0,9-1,5$  Å). При оценке соединения РУ-204 значения RMSD рецептора достигали  $4,5$  Å, лиганд сохранял стабильность в диапазоне  $1,1-1,3$  Å. Анализ флуктуаций остатков выявил наибольшую подвижность в областях  $100-123$  и  $200-250$ , при этом контакт с ASP155 в виде водородной связи и солевого мостика сохранялся  $60\%$  и  $39\%$  времени для соединения РУ-30,  $68\%$  и  $31\%$  для соединения РУ-31,  $58\%$  и  $36\%$  для соединения РУ-204.  $\pi$ - $\pi$ -стэкинг с TRP336 и RHE340 сохранялся до  $98\%$  и  $90\%$  времени симуляции для соединения РУ-31.

Биопотенциал-опосредованная оценка нейропсихотропных эффектов осуществлялась путем кластеризации 16500 семплов 2-с эпох электрокортикографических сигналов, сжатых в 80-мерное пространство параметров посредством автоэнкодера. Коэффициенты сходства адекватно отражали распределение эталонных лекарственных средств по механизму действия (рисунок 7): хлорпромазин и галоперидол ( $0,837$ ), клозапин и рисперидон ( $0,915$ ), клозапин и кветиапин ( $0,884$ ), amitриптилин и эсциталопрам ( $0,731$ ), флуоксетин и эсциталопрам ( $0,964$ ). На фоне действия производных бензимидазола РУ-31, РУ-30 и РУ-204 выявлено наиболее высокое сходство с эффектами атипичного нейролептика клозапина (коэффициенты сходства  $0,76$ ;  $0,69$  и  $0,57$  соответственно), а также блокаторов 5-HT<sub>2A</sub>-рецепторов кетансерина ( $0,75$ ;  $0,65$  и  $0,58$ ) и ципрогептадина ( $0,67$ ;  $0,64$  и  $0,59$ ).

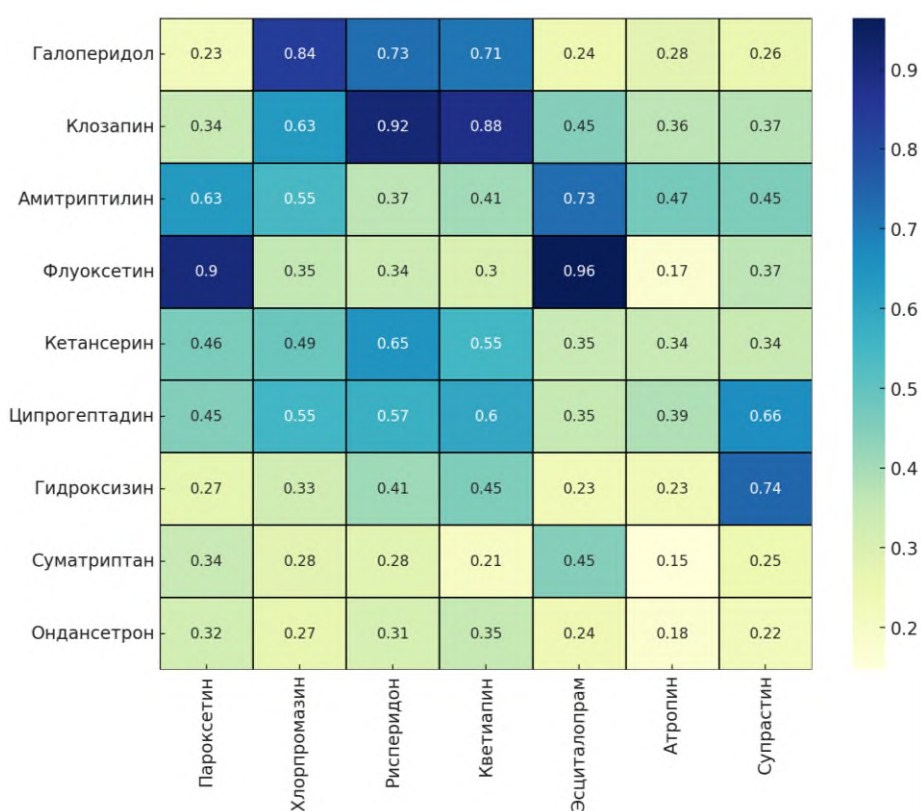
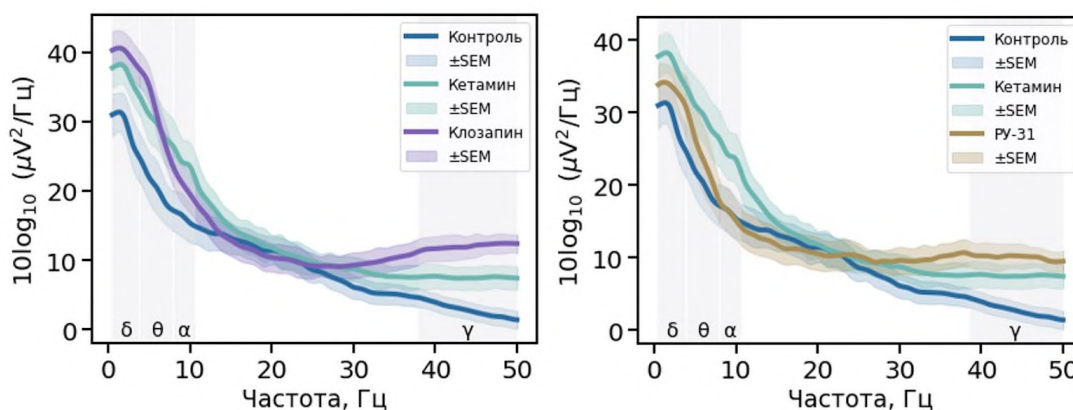


Рисунок 7 – Относительная близость кластеров ЭКГ-сигналов в параметрическом пространстве. Коэффициенты сходства безразмерны, относительны и вычисляются как расстояния ( $1 - \text{нормированная дистанция}$ ) между кластерами в 80-мерном пространстве бутылочного горлышка автоэнкодера. По вертикали отмечены препараты обучающей выборки, по горизонтали – валидационные препараты

При анализе локальных полевых потенциалов в модели кетамин-индуцированного психоза (20 мг/кг) отмечался рост мощности дельта-, тета-, альфа- и гамма-ритмов в медиальной префронтальной коре и сокращение мощности альфа- и бета-диапазонов в гиппокампе. Соединение РУ-31 (10 мг/кг) нивелировало кетамин-индуцированное повышение альфа-ритма в префронтальной коре и, подобно клозапину, повышало гамма-активность. В гиппокампе соединение РУ-31 снижало альфа- и повышало мощность бета-ритма (рисунок 8). Взвешенный индекс фазовой задержки между префронтальной корой и гиппокампом снижался под действием кетамина на частотах выше 5 Гц. Соединение РУ-31 потенцировало данный эффект в диапазоне 8–15 Гц и частично восстанавливало коннективность на частотах свыше 30 Гц.

### mPFC



### Hipp

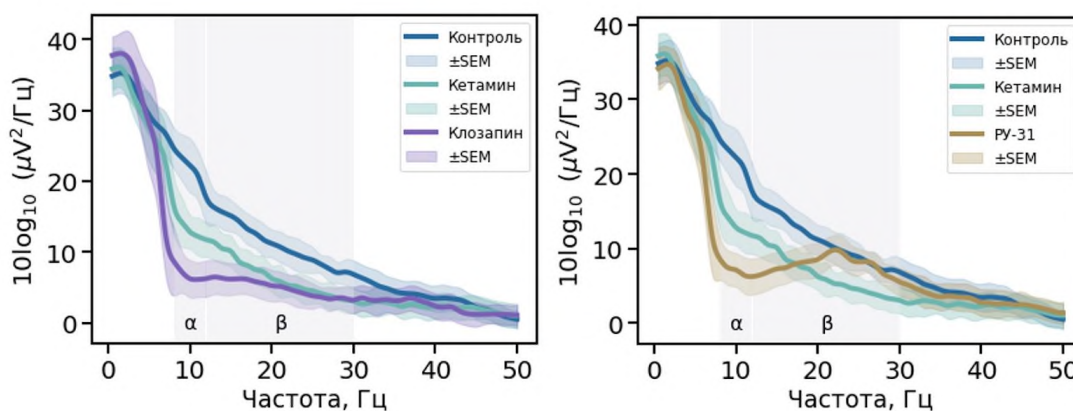


Рисунок 8 – Спектральная плотность мощности сигнала в медиальной префронтальной коре (mPFC) и гиппокампе (Hipp). Фоновая активность (первые 10 минут записи) показана линией синего цвета. Спектральная плотность мощности сигналов под действием кетамина (20 мг/кг) отражена зеленой линией. Фиолетовым и желто-коричневым цветами показана спектральная плотность мощности сигнала после введения атипичного нейролептика клозапина (7,5 мг/кг, в/б) и соединения РУ-31 (10 мг/кг, в/б). Серым фоном обозначены частотные диапазоны с максимальными различиями по сравнению с контролем.

В ходе изучения влияния соединения РУ-31 на мембранные токи пирамидных нейронов шестого слоя префронтальной коры методом “patch clamp” было выявлено, что аппликация серотонина (10 мкМ) индуцирует исходящие токи силой  $50,23 \pm 7,21$  пА. Введение соединения РУ-31 (10 мкМ) достоверно ( $p = 0,0211$ ) снижало ток на 59,11% до  $20,54 \pm 7,12$  пА (рисунок 9). Аналогичное ингибирование вызывал клозапин ( $23,37 \pm 6,41$  пА,  $p = 0,0395$ ), тогда как галоперидол не изменял параметры.

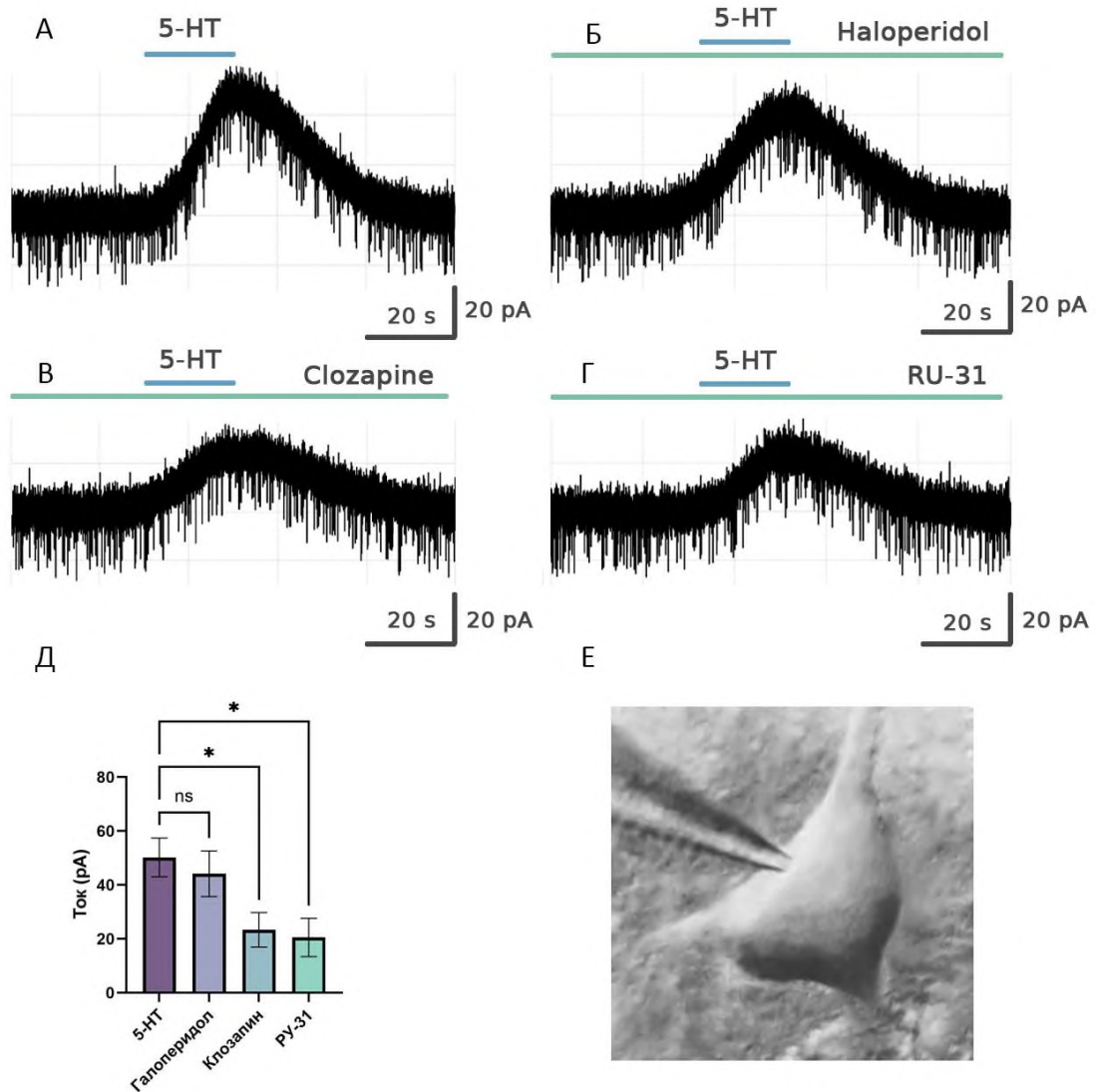


Рисунок 9 – Влияние веществ с антипсихотической активностью на гиперполяризацию, индуцированную серотонином в L6 нейронах медиальной префронтальной коры. А - репрезентативный сигнал группы контроля (5-НТ, 10 мкМ); Б - репрезентативный сигнал после аппликации 5-НТ + галоперидол (15 мкМ); В - репрезентативный сигнал после аппликации 5-НТ + клозапин (15 мкМ); Г - репрезентативный сигнал после аппликации 5-НТ + РУ-31 (10 мкМ); Д - диаграмма со средними значениями тока для 5-НТ, а также при комбинированном воздействии с галоперидолом, клозапином и соединением РУ-31; Е - пирамидный нейрон L6 слоя медиальной префронтальной коры крысы  
Примечание: \* –  $p < 0,05$ , однофакторный ANOVA с апостериорным тестом Даннета.

В ходе нейрофармакологического исследования соединение РУ-31 (130 мкг и.ц.в.) не влияло на галоперидоловую каталепсию (3 мг/кг), подтверждая отсутствие  $D_2$ -блокирующего эффекта. На модели пикротоксиновых судорог (2,5 мг/кг) соединение РУ-31 (25 мкг и.ц.в.) увеличивало латентный период тремора в 1,8 раза, латентный период первых клонических судорог более чем в 1,5 раза и уменьшало среднее количество приступов в 1,96 раза ( $p < 0,05$ ). Вещество не изменяло клонидиновую гипотермию (0,1 мг/кг) и параметры ареколинового тремора (15 мг/кг, латентный период 47,7 с в контроле и 51,2 с в опыте). Антисеротониновое действие *in vivo* подтверждалось блокированием 5-ГТФ гиперкинеза (300 мг/кг) в интервале с 10-й по 50-ю минуту наблюдения. Отсутствие потенцирования эффектов малых доз L-ДОФА (100 мг/кг) исключило моноаминоксидазную активность соединения РУ-31.

При оценке сенсомоторного гейтинга кетамин снижал препульсовое ингибирование на 32,02%. Локальное введение галоперидола (5 мкг) в медиальную префронтальную кору усугубляло дефицит на 28,96%, а соединение РУ-31 (15 мкг) восстанавливало показатель на 34,94% до значений негативного контроля (рисунок 10).

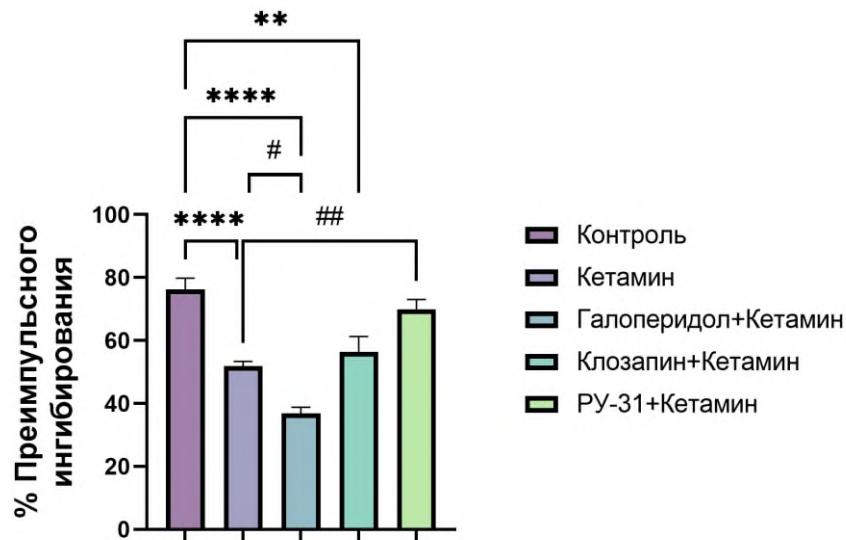


Рисунок 10 – Влияние галоперидола (5 мкг), клозапина (10 мкг) и соединения РУ-31 (15 мкг) на эффекты кетамина (10 мг/кг, в/б) в тесте препульсового ингибирования,  $M \pm SEM$ ,  $n = 8$

*Примечание:* \*\* – различия статистически значимы относительно группы контроля ( $p < 0,01$ , one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки). \*\*\*\* – различия статистически значимы относительно группы контроля ( $p < 0,0001$ , one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки). # – различия статистически значимы относительно группы Кетамин ( $p < 0,05$ , one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки). ## – различия статистически значимы относительно группы Кетамин ( $p < 0,01$ , one-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки).

Исследование антипсихотического спектра включало тесты взаимодействия с апоморфином. Расчетная эффективная доза (ED80) для подавления апоморфиновой вертикализации (5 мг/кг) составила 0,9753 мг/кг для галоперидола, 7,659 мг/кг для клозапина и 10,16 мг/кг для соединения РУ-31 (рисунок 11). Галоперидол (1 мг/кг) статистически значимо угнетал апоморфиновую гиперактивность в открытом поле и подавлял стереотипное поведение. Клозапин (7,5 мг/кг) и соединение РУ-31 (10 мг/кг) не снижали уровень двигательной активности и не влияли на выраженность стереотипии, демонстрируя атипичный профиль. При введении пресинаптической дозы апоморфина (0,1 мг/кг) зевательное поведение снижалось на 81,5% под действием галоперидола, на 65,7% после клозапина и на 49,3% после введения соединения РУ-31. В тесте апоморфин-индуцированного агрессивного поведения галоперидол увеличивал время до первого проявления агрессии и снижал ее интенсивность ( $p < 0,001$ ), клозапин увеличивал латентный период ( $p < 0,05$ ), тогда как соединение РУ-31 не оказывало значимого ингибирующего влияния.

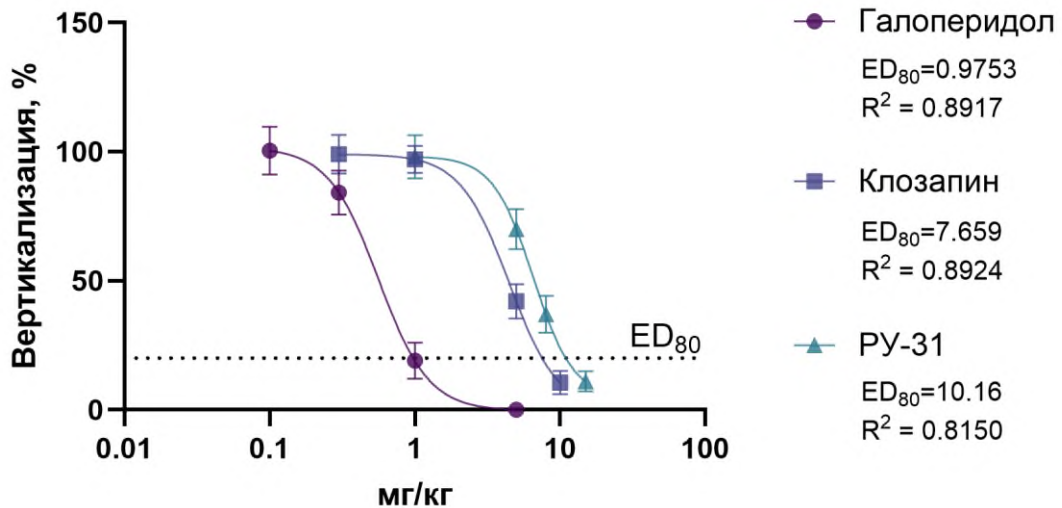


Рисунок 11 – Кривые «доза-эффект» для возрастающих доз (в/б) галоперидола, клозапина и соединения РУ-31 в тесте вертикализации у мышей со стереотипическим расстройством, индуцированным однократным введением апоморфина (5 мг/кг)

*Примечание:* данные представлены в виде  $M \pm SEM$  ( $n = 8$ ).

В модели неонатального разрушения вентрального гиппокампа медианная локомоторная активность животных возрастала до 98,0 пересеченных линий ( $Q_1; Q_3[69,0; 119,0]$ ;  $p < 0,01$ ). Введение соединения РУ-31 (10 мг/кг) и клозапина (7,5 мг/кг) достоверно снижало локомоцию до 58,0 ( $p < 0,05$ ) и 47,0 ( $p < 0,01$ ) пересечений соответственно. Время социального взаимодействия (153,84 с в группе позитивного контроля) увеличивалось до 227,6 с при введении соединения РУ-31 ( $p < 0,05$ ), в то время как клозапин значимого эффекта не оказывал (152,83 с). Разрушение гиппокампа приводило к снижению коэффициента дискриминации в фазе долговременного удержания в тесте распознавания нового объекта до 0,29. Введение соединения РУ-31 и клозапина восстанавливало этот показатель до 0,73 и 0,68 соответственно ( $p < 0,05$ ). В кетамин-индуцированной модели локомоторная активность увеличивалась до 108,5 пересечений. Применение соединения РУ-31 и клозапина снижало гиперактивность до 46,5 и 40,0 (критерий Краскела-Уоллиса,  $N = 13,46$ ,  $p = 0,0037$ ). Кетамин подавлял социальное взаимодействие до 10,22 с, тогда как соединение РУ-31 и клозапин восстанавливали его до 63,2 и 62,38 с ( $N = 13,17$ ,  $p = 0,0043$ ). Дефицит долговременного удержания информации (коэффициент 0,21) устранялся соединением РУ-31 (0,69) и клозапином (0,57) при  $N = 14,42$  ( $p = 0,0024$ ). В модели материнской иммунной активации, вызванной липополисахаридом, локомоторная активность возрастала до 123,5 пересечений, а после получения соединения РУ-31 и клозапина сокращалась до 88,0 и 77,0 ( $N = 13,38$ ,  $p = 0,0039$ ). Время социального взаимодействия уменьшалось до 98,5 с при отсутствии фармакологического воздействия и восстанавливалось до 220,0 с в обеих экспериментальных группах ( $N = 12,76$ ,  $p = 0,0052$ ). В фазе долговременного удержания снижение коэффициента дискриминации до 0,24 компенсировалось соединением РУ-31 и клозапином до 0,74 ( $p = 0,022$ ) и 0,67 ( $p = 0,049$ ) соответственно.

Анализ 12 паттернов поведения крыс показал, что клозапин в дозах 7,5 и 15 мг/кг ( $p < 0,0001$ ) подавлял быструю поступательную локомоцию, вертикальные стойки, быстрые повороты головы и прерывистые мелкие перемещения, а также стимулировал груминг и вылизывание лап. Соединение РУ-31 в дозе 10 мг/кг избирательно снижало только частоту вертикальных стоек и быстрых поворотов головы ( $p < 0,05$ ), а в дозе 20 мг/кг дополнительно угнетало быструю локомоцию и повороты на месте ( $p < 0,001$  и  $p < 0,05$ ). При этом соединение РУ-31 не влияло на короткие остановки и мелкие перемещения, демонстрируя существенно меньший седативный потенциал. В задаче спонтанного чередования в Т-

образном лабиринте (таблица 2) у животных контрольной группы исследуемый показатель составил 73,15%. Соединение РУ-31 в дозе 10 мг/кг не вызывало статистически значимых нарушений рабочей памяти (57,15%), при увеличении дозы до 20 мг/кг фиксировали снижение показателя до 53,60% ( $p < 0,05$ ). Клозапин нарушал альтернацию значительно сильнее: 54,85% при 7,5 мг/кг ( $p < 0,05$ ) и 28,95% при 15 мг/кг ( $p < 0,001$ ).

Таблица 2 – Влияние вещества РУ-31 (10 и 20 мг/кг, внутривбрюшинно) и клозапина (7,5 и 15 мг/кг, внутривбрюшинно) на рабочую память в тесте спонтанного чередования в Т-образном лабиринте

Группа (n = 10)	Доза, мг/кг	%СЧ, Ме [Q <sub>1</sub> ;Q <sub>3</sub> ]
Контроль (растворитель)	–	73,15 [67,05;80,68]
РУ-31	10	57,15 [51,38;67,45]
РУ-31	20	53,60 [45,75;59,45]*
Клозапин	7,5	54,85 [44,15;61,83]*
Клозапин	15	28,95 [26,00;41,58]***

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ , критерий Краскела-Уоллиса с апостериорным тестом Данна); \*\*\* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ( $p < 0,001$ , критерий Краскела-Уоллиса с апостериорным тестом Данна).

**В пятой главе** описаны результаты исследования противосудорожных и нейропротективных свойств новых производных бензимидазола с применением комплекса методов молекулярного моделирования *in silico*, электрофизиологических подходов в комбинации с алгоритмами машинного обучения, а также доклинических тестов *in vitro* и *in vivo*. На начальном этапе был проведен анализ взаимосвязи «структура-активность» для исходной библиотеки, включающей 4876 соединений с известной эффективной дозой в отношении каппа-опиоидного рецептора. Для оценки химического пространства строились карты сходства структуры-активности путем расчета коэффициентов Танимото с использованием молекулярных отпечатков ЕСFP4 (рисунок 12). Анализ распределения пар соединений выявил высокую плотность данных в квадранте, соответствующем парам структурно близких соединений с незначительной разницей в активности, что обеспечило наличие плавного градиента для построения прогностических моделей. После удаления дубликатов, стандартизации структур, исключения соединений с неполными данными и минимизации влияния «активных обрывов» была сформирована обучающая выборка из 3865 соединений.

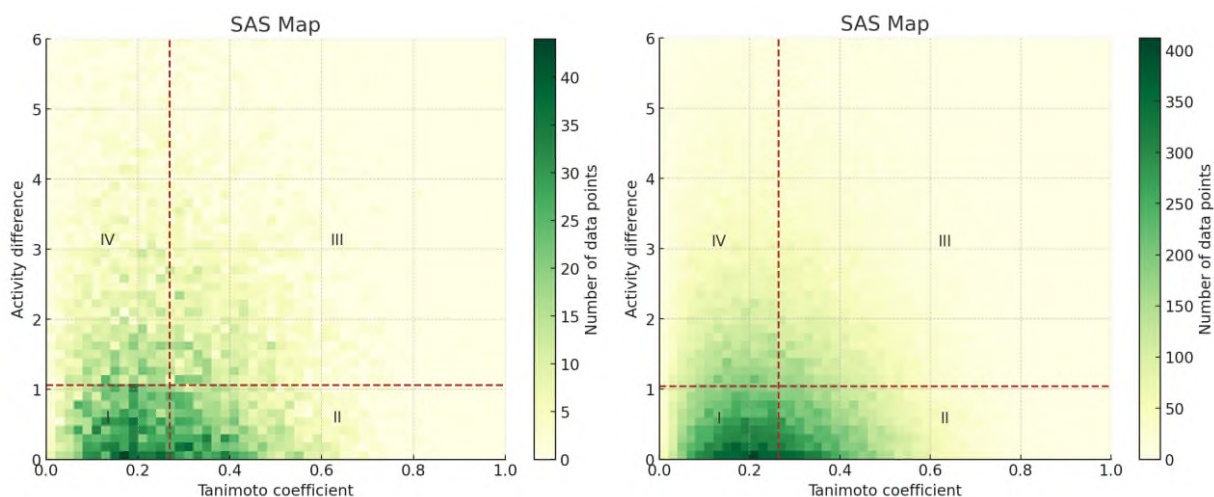


Рисунок 12 – SAS-карта (Structure-Activity Similarity Map) для библиотеки 4876 соединений с известной активностью в отношении капша-опиоидного рецептора. На SAS-карте выделены четыре квадранта: I – соответствует области скаффолд-хоппинга (низкое структурное сходство и низкая разница в активности); II – область плавного изменения SAR (высокое структурное сходство и низкая разница в активности); III – включает активностные обрывы (высокое структурное сходство и высокая разница в активности); IV – представляет область неопределенности (низкое структурное сходство и высокая разница в активности). Справа – карта для всех пар соединений. Слева – карта для пар соединений тестовой выборки. Пунктирными линиями обозначены медианные значения

Разработанная на базе алгоритма случайного леса QSAR-модель продемонстрировала высокую обобщающую способность, коэффициент детерминации составил 0,842 для валидационной выборки и 0,824 для независимой тестовой выборки при значениях среднеквадратичной ошибки 0,126 и 0,150 соответственно (таблица 3). Данная модель была использована для скрининга новой серии галогенфенилзамещенных производных бензимидазола, синтезированных для поиска более эффективных аналогов соединения РУ-1205. На основании комплексного расчета активности и физико-химических свойств, включая проницаемость через гематоэнцефалический барьер и абсорбцию в желудочно-кишечном тракте, наиболее перспективными кандидатами были признаны соединения BIF-70, BIF-72 и BIF-74.

Таблица 3 – Оценка производительности QSAR модели на основе алгоритма Random forest на валидационных и тестовых данных

Фолд	R <sup>2</sup> (валидация)	RMSE (валидация)	R <sup>2</sup> (тест)	RMSE (тест)
1	0,85	0,12	0,83	0,15
2	0,82	0,14	0,8	0,18
3	0,87	0,11	0,86	0,12
4	0,84	0,13	0,81	0,16
5	0,83	0,13	0,82	0,14
<b>Средний</b>	<b>0,842</b>	<b>0,126</b>	<b>0,824</b>	<b>0,15</b>

Для прогнозирования аффинности отобранных молекул применялся метод гибкого молекулярного докинга. Соединение VIF-72 продемонстрировало наименьший показатель энергии связывания с КОР, составивший  $-9,230$ , что сопоставимо с показателем классического агониста буторфанол ( $-9,2$ ). Показатель для соединения VIF-70 составил  $-9,015$ , а для соединения VIF-74  $-7,7$ . Взаимодействие соединений VIF-70 и VIF-72 с рецептором характеризовалось образованием солевого мостика с аминокислотным остатком ASP138 и  $\pi$ -стэкинга с остатком TYR139, вещество VIF-74 формировало  $\pi$ - $\pi$ -связь с TYR139. Эти данные позволяют предположить, что образование солевого мостика с ASP138 является необходимым условием для проявления активности, а усиление аффинности достигается за счет  $\pi$ -стэкинга с тирозиновыми остатками. Молекулярная динамика комплексов КОР с соединениями VIF-70 и VIF-72 подтвердила их конформационную стабильность. Значения среднеквадратичного отклонения альфа-углеродных атомов белка достигали  $3,5-4,0 \text{ \AA}$  с последующей стабилизацией после 50 нс симуляции. Среднеквадратичное отклонение лиганда VIF-70 стабилизировалось в диапазоне  $2,5-3,0 \text{ \AA}$ , а лиганда VIF-72 в более широком диапазоне  $2,5-4,0 \text{ \AA}$  после 50 нс, что указывает на достижение устойчивого равновесного состояния комплексов.

Электрофизиологический этап включал биопотенциал-опосредованную оценку активности с помощью автоэнкодера на основе сверточных нейронных сетей (рисунок 13). Сигналы электрокортикограмм, зарегистрированные после введения 11 различных проконвульсивных и антиконвульсивных средств, классифицировались с точностью 0,631, что значительно превышало показатель случайного классификатора (0,091 при  $p < 0,0001$ ). Коэффициенты сходства в 80-мерном пространстве бутылочного горлышка нейросети достоверно отражали механизмы действия препаратов, сходство коразола и пикротоксина составило 0,9, диазепам и феназепам – 0,9, прегабалин и габапентин – 0,9, карбамазепин и эсликарбазепин – 0,9.

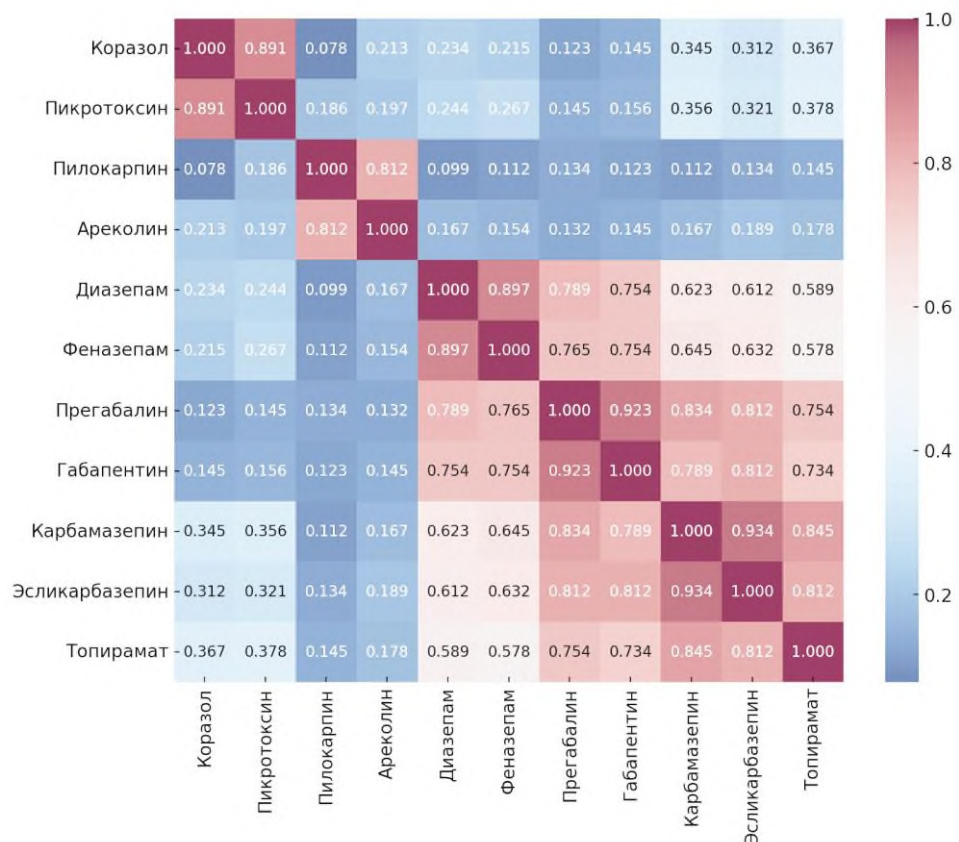


Рисунок 13 – Относительная близость кластеров ЭКОГ-сигналов в параметрическом пространстве. Коэффициенты сходства безразмерны, относительны и вычисляются как расстояния между кластерами в 80-мерном пространстве бутылочного горлышка автоэнкодера

Параметры ЭКоГ-сигналов на фоне действия бифенилпроизводного ВIF-72 характеризовались близостью к кластеру противосудорожных средств, достигая максимального коэффициента сходства с топираматом (0,847). В свою очередь, сигналы, ассоциированные с введением ВIF-70, занимали равноудаленную позицию в пространстве признаков относительно проконвульсивных и антиконвульсивных средств, что свидетельствует об отсутствии значимого модулирующего влияния на возбудимость ЦНС.

В экспериментах *in vitro* на модели активации тромбоцитов кролика методом малоуглового светорассеяния была верифицирована каппа-агонистическая активность<sup>2</sup>. Под действием соединения ВIF-72 уровень активации достигал 33,3%, обратимо снижаясь до 22,3% в присутствии блокатора норбиналторфимина. Показатель для соединения ВIF-70 составил 26,8%, для соединения ВIF-74 – 71,1%, для соединения ВIF-78 – 29,7%. Вследствие недостаточной растворимости соединения ВIF-74 и ВIF-78 были исключены из дальнейших испытаний. Эталонный агонист U-50488 индуцировал активацию на 22,8%, ингибируемую до 8,6% специфическим антагонистом.

В скрининговых тестах *in vivo* оценивалась противосудорожная активность. В тесте максимального электрошока медианная длительность судорог в контрольной группе составила 14,5 с при выживаемости 16,67%. Карбамазепин в дозе 20 мг/кг снижал длительность судорог в 2,5 раза при выживаемости 75% ( $p < 0,05$ ). Соединение ВIF-70 (20 мг/кг) не изменяло длительность судорог (17,0 с) и обеспечивало выживаемость 33,33%. Соединение ВIF-72 (20 мг/кг) не снижало длительность приступа (17,5 с), но статистически значимо повышало выживаемость до 66,67% ( $p < 0,05$ ). В тесте коразоловых судорог (75 мг/кг) диазепам (1 мг/кг) увеличивал латентный период миоклонуса в 12,9 раза. Соединения ВIF-70 и ВIF-72 в дозе 20 мг/кг не оказывали значимого влияния на латентные периоды миоклонуса и клонических судорог, однако вещество ВIF-70 увеличивало время развития тонических судорог в 1,4 раза (224,1 с по сравнению с 156,4 с в контроле,  $p < 0,05$ ), а вещество ВIF-72 в 1,5 раза (229,5 с,  $p < 0,05$ ). При исследовании спектра активности вещества ВIF-72 на модели фокальных судорог, вызванных аппликацией пенициллина, соединение не проявило значимого антиэпилептиформного действия, параметры интериктальных и иктальных разрядов оставались на уровне контроля, тогда как карбамазепин (10 мг/кг) достоверно увеличивал латентный период и сокращал число разрядов.

На модели спонтанных рецидивирующих судорог, индуцированных пилокарпином (320 мг/кг), оценивался болезнь-модифицирующий эффект. Отмена диазепама (2 мг/кг) приводила к развитию симптома рикошета с интенсивным нарастанием судорог после седьмого дня. Применение топирамата (30 мг/кг) и соединения ВIF-72 (20 мг/кг) статистически значимо сокращало частоту приступов в отсутствие лечения, подтверждая способность воздействовать на механизмы хронификации эпилепсии. На модели коразолового киндлинга судорожная активность контрольной группы нарастала до максимума (4,56 баллов) к 17-му дню, при этом 44% животных погибали. Внутривентрикулярное введение соединения ВIF-72 (20 мг/кг) статистически значимо снижало тяжесть проявлений и ограничивало судорожную активность на уровне не выше 2,5 баллов. Выживаемость к 31-му дню составила 53,33% в контроле, 80,00% при использовании топирамата и 86,67% в группе соединения ВIF-72 ( $p < 0,05$  по критерию хи-квадрат).

Нейропротективный и противовоспалительный потенциал соединения ВIF-72 исследовался в нескольких моделях. На острых срезах гиппокампа после воздействия липополисахарида однофакторный дисперсионный анализ выявил значительные различия в выживаемости нейронов ( $F_{(3,16)} = 13,74$ ,  $p < 0,005$ ). Соединения U-50488 и ВIF-72 статистически значимо снижали индуцированную липополисахаридом гибель клеток (рисунок 14).

---

<sup>2</sup> Выражается благодарность доценту кафедры фармакологии и биоинформатики, к.м.н. Н. В. Елисевой за помощь в проведении исследований.

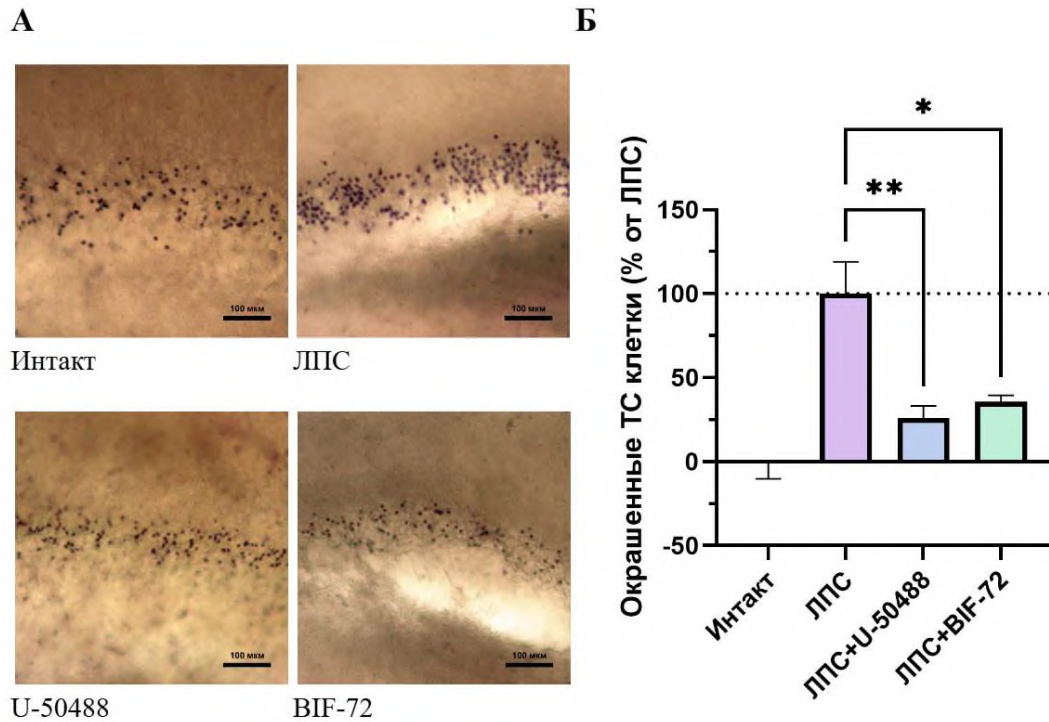


Рисунок 14 – Нейропротективные эффекты соединений на срезах гиппокампа крыс. (А) Репрезентативные изображения с окрашиванием трипановым синим (ТС). (Б) График отражает уровни ЛПС-индуцированной гибели нейронов при обработке соединением ВІF-72 (\* –  $p < 0,05$ ) и U-50488 (\*\* –  $p < 0,005$ ) по сравнению с ЛПС-контролем. Данные представлены как  $M \pm SEM$

В модели эндоваскулярной обратимой окклюзии левой средней мозговой артерии у крыс неврологический дефицит оценивался по нескольким шкалам. Интегральный балл двигательной активности в контроле составил 1,00 по сравнению с 3,00 у интактных животных. Введение соединения U-50488 (10 мг/кг) и ВІF-72 (10 мг/кг) позволяло сохранить функцию на уровне 3,00 баллов ( $p < 0,05$ ). Хватательный рефлекс был сохранен на уровне 3,00 баллов в группе U-50488 ( $p < 0,05$ ), тогда как в группе соединения ВІF-72 медиана составила 2,00 балла. По результатам окрашивания хлоридом 2,3,5-трифенилтетразолия (рисунок 15) площадь зоны инфаркта мозга в контроле составила 27,84%. В группах, получавших U-50488 и соединение ВІF-72, объем некроза был статистически значимо меньше: 14,08% (снижение на 49,28%) и 18,65% (снижение на 32,73%) соответственно ( $p < 0,05$ ).

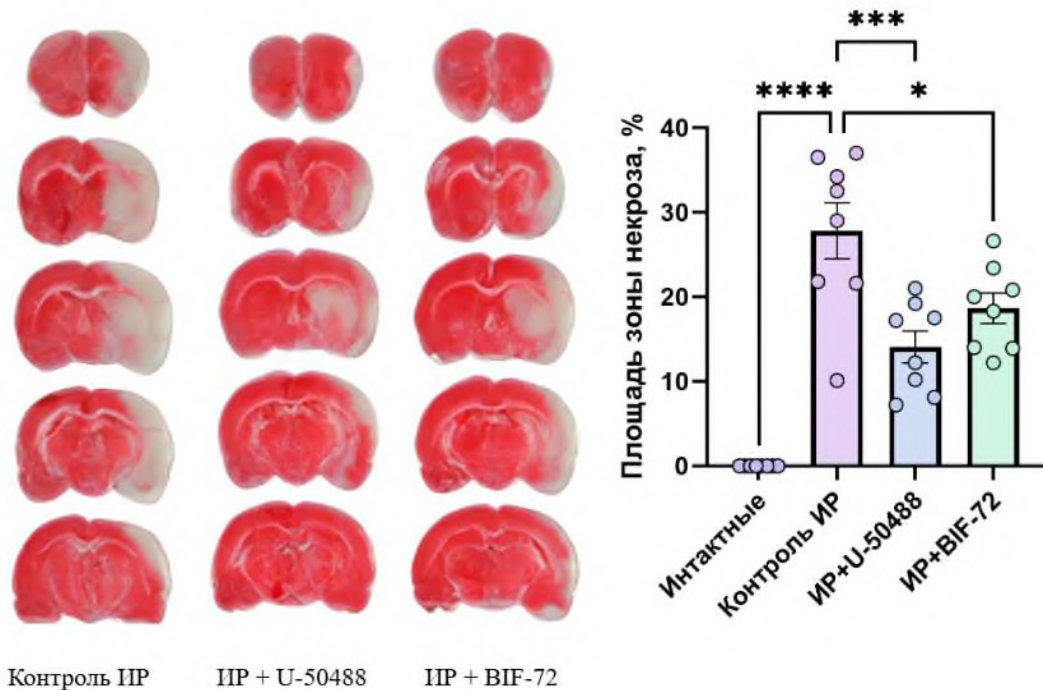


Рисунок 15 – Репрезентативные окрашенные 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом коронарные срезы головного мозга крыс, отражающие влияние агонистов каппа-опиоидных рецепторов U-50488 (10 мг/кг) и соединения ВIF-72 (10 мг/кг) на площадь зоны повреждения головного мозга

*Примечание:* данные представлены в виде  $M \pm SEM$ . Различия статистически значимы относительно группы «Контроль ИР»: \* –  $p < 0,05$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ; \*\*\*\* –  $p < 0,0001$ , однофакторный ANOVA с апостериорным тестом Даннета. ИР – ишемия-реперфузия.

При оценке продукции оксида азота и активности лактатдегидрогеназы на культуре перитонеальных макрофагов<sup>3</sup> показано, что соединение ВIF-70 снижает уровень оксида азота только в токсичной концентрации 100 мкМ (полумаксимальная ингибирующая концентрация более 100 мкМ, цитотоксическая концентрация 54,01 мкМ). Соединение ВIF-72 дозозависимо подавляло синтез оксида азота (ингибирующая концентрация 1,293 мкМ) при сохранении высокой жизнеспособности клеток (цитотоксическая концентрация 192,6 мкМ).

В заключительной части главы представлен нейротоксикологический профиль соединения ВIF-72. По результатам автоматизированного анализа десяти поведенческих паттернов у крыс установлено, что топирамат (20 и 40 мг/кг) вызывает статистически значимое снижение частоты стереотипных форм поведения и груминга, а также повышение вертикальной активности и медленной локомоции ( $p < 0,05$ ). Соединение ВIF-72 в аналогичных дозах характеризовалось более избирательным эффектом, снижая частоту активных ориентировочно-исследовательских действий и усиливая вертикальную активность в максимальной дозе ( $p < 0,05$ ), тогда как показатели рутинных видов двигательной активности оставались на уровне контроля. В тесте вращающегося стержня время удержания в контроле составило 69,29 с, вещество ВIF-72 (44,44 с при 40 мг/кг) и топирамат (44,77 с при 40 мг/кг) не приводили к статистически значимому нарушению координации. Аналогично, в тесте удержания на сетке (контроль 309,8 с) вещества не вызывали снижения мышечного тонуса (224,2 с для соединения ВIF-72 и 228,0 с для топирамата при 40 мг/кг). Когнитивные функции оценивались в Т-образном лабиринте (таблица 4), спонтанное чередование в контроле достигало 72,20%. Соединение ВIF-72 в

<sup>3</sup> Выражается благодарность профессору кафедры фармакологии и биоинформатики, д.фарм.н. Д. А. Бабкову за помощь в проведении исследований.

дозе 40 мг/кг снижало показатель до 56,45% ( $p < 0,01$ ), а топирамат до 52,45% ( $p < 0,01$ ), что отражает типичное для высоких доз антиконвульсантов угнетение рабочей памяти.

Таблица 4 – Влияние вещества ВІF-72 (20 и 40 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) и топирамата (20 и 40 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) на рабочую память в тесте спонтанного чередования в Т-образном лабиринте

Группа (n = 10)	Доза, мг/кг	%СЧ, Ме[Q <sub>1</sub> ;Q <sub>3</sub> ]
Контроль (растворитель)	–	72,20 [65,43;78,83]
ВІF-72	20	61,30 [51,90;66,40]
ВІF-72	40	56,45 [44,78;66,83]**
Топирамат	20	66,20 [52,25;71,20]
Топирамат	40	52,45 [50,88;62,43]**

*Примечание:* \*\* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ( $p < 0,01$ , критерий Краскела-Уоллиса с апостериорным тестом Данна).

Для оценки аверсивных свойств соединений применялась регрессионная модель на основе параметров ЭЭГ (MAE = 9,78). В контрольной группе предсказанное изменение времени пребывания в отсеке составило 15,18 с, а фактическое 6,38 с. Для вещества ВІF-72 прогноз составил –8,54 с, тогда как фактический результат в тесте УРИМ был равен –2,00 с, что статистически не отличалось от контроля и указывает на отсутствие аверсивного эффекта. Для соединения ВІF-70 модель предсказала наличие подкрепляющих свойств (увеличение времени на 30,49 с), это было подтверждено экспериментально, время пребывания в отсеке увеличилось на 26,88 с ( $p = 0,0402$ ).

**В шестой главе** представлено теоретическое обобщение результатов исследования, а также критический анализ эффективности реализованной стратегии направленного поиска новых нейрпсихотропных средств. На основе комплексной оценки обосновывается валидность и прогностическая ценность предложенного алгоритма виртуального скрининга, позволяющего осуществлять рациональный отбор химических структур с заданными фармакодинамическими характеристиками. Обсуждение охватывает механизм действия, терапевтические эффекты и безопасность трех наиболее перспективных соединений-лидеров.

Результаты молекулярно-динамического моделирования и данные электрофизиологических экспериментов позволяют полагать, что соединение РУ-1205 является функционально селективным агонистом каппа-опиоидных рецепторов, преимущественно активирующим G-белок-зависимый внутриклеточный сигналинг. Данный механизм лежит в основе его анальгетического действия, реализуемого через структуры околосинаптического серого вещества и большого ядра шва, а также обуславливает противозудную активность. Существенным преимуществом соединения РУ-1205 является минимальное вовлечение  $\beta$ -аррестинового сигнального каскада, что, согласно современным представлениям о функциональной селективности опиоидных лигандов, объясняет отсутствие дисфории, аверсивных реакций и седации – побочных эффектов, существенно ограничивающих терапевтическое применение неселективных каппа-агонистов.

В исследовании показано, что соединение РУ-31 способно восстанавливать нарушенную осцилляторную активность и межструктурное взаимодействие в системе «медиальная префронтальная кора – гиппокамп». Эффективность вещества подтверждена в трех различных моделях психотических состояний (кетаминовой, липополисахаридной, а также модели неонатального повреждения вентрального гиппокампа). Во всех использованных экспериментальных парадигмах соединение РУ-31 оказывало корригирующее влияние на проявления позитивной и негативной симптоматики, а также устраняло когнитивные нарушения, включая дефицит сенсомоторного гейтинга. Важно подчеркнуть, что отсутствие клинически значимого сродства к дофаминовым D<sub>2</sub>-рецепторам минимизирует вероятность развития экстрапирамидных побочных эффектов. Кроме того, высокая рецепторная селективность соединения РУ-31 позволяет избежать чрезмерной седации и нарушений рабочей памяти, характерных для мультитаргетных антипсихотиков, в частности клозапина.

В рамках поиска средств патогенетической терапии судорожных состояний были изучены фармакологические свойства бифенилпроизводного бензимидазола ВIF-72. Результаты, полученные на моделях хронического эпилептогенеза (коразоловом киндлинге и пилокарпиновой модели височной эпилепсии), свидетельствуют о том, что соединение ВIF-72 обладает антиэпилептогенной активностью, замедляя прогрессирование заболевания и способно статистически значимо снижать частоту спонтанных рецидивирующих судорожных приступов. Нейропротективное действие соединения ВIF-72, установленное в условиях экспериментального нейровоспаления и фокальной ишемии головного мозга, связано с ингибированием продукции оксида азота и предотвращением эксайтотоксической гибели нейронов. Следует отметить, что терапевтические эффекты соединения проявляются без выраженного нарушения моторных функций, таких как координация движений и мышечный тонус, что является существенным преимуществом по сравнению с рядом антиконвульсантов, применяемых в клинической практике.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках настоящей диссертационной работы реализована комплексная экспериментальная стратегия, направленная на поиск, идентификацию и углубленное изучение нейрорепродуктивных свойств новых конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола. Исследование базировалось на последовательном применении вычислительных методов (QSAR-моделирование, фармакофорный анализ, гибкий молекулярный докинг, полноатомная молекулярная динамика) в комбинации с биопотенциал-опосредованным подходом и последующей экспериментальной верификацией наиболее перспективных кандидатов с использованием электрофизиологических, поведенческих и биохимических методов. Предлагаемая стратегия, соответствующая парадигме рационального дизайна лекарственных средств, позволила существенно сузить перечень исходных веществ и обосновать выбор трех соединений-лидеров: селективного каппа-опиоидного агониста с аналгетической и противозудной активностью (PY-1205), атипичного антипсихотика с 5-HT<sub>2A</sub>-антагонистическим механизмом действия (PY-31) и антиэпилептогенного средства с нейрорепродуктивными свойствами (BIF-72). Полученные результаты подтвердили, что бензимидазольное ядро является многофункциональным скаффолдом, способным обеспечивать взаимодействие с различными мишенями центральной нервной системы.

Для исходной библиотеки, включающей более двух тысяч структур производных бензимидазола, была проведена процедура многопараметрической фильтрации с использованием физико-химических дескрипторов, оценки соответствия правилу Липински, расчета показателя проницаемости через гематоэнцефалический барьер и вычисления интегрального индекса CNS MPO. Для анализа взаимосвязи «структура–активность» были построены SAS-карты на основе коэффициентов Танимото с использованием молекулярных отпечатков ECFP4, а также ландшафты активности, визуализирующие распределение биологической активности в многомерном пространстве химических структур. Фармакофорный анализ позволил построить шестифункциональную модель, отражающую ключевые точки взаимодействия лигандов с каппа-опиоидным рецептором, при этом соединение PY-1205 наиболее полно соответствовало данной модели. Результаты гибкого молекулярного докинга подтвердили, что соединение PY-1205 способно образовывать стабильный комплекс с каппа-опиоидным рецептором за счет солевого мостика с ASP138, водородных связей с GLN115 и SER211 и  $\pi$ -стэкинг-контактов с TYR139, при этом среди исследованных аналогов соединение характеризовалось наиболее низким значением скоринг-функции. Результаты молекулярной динамики выявили различия локальной подвижности внутриклеточных участков доменов рецептора в комплексах с соединением PY-1205 и сбалансированным агонистом U-50488, что согласуется с гипотезой G-белок-смещенного агонизма.

Электрофизиологические исследования с применением биопотенциал-опосредованного подхода показали, что влияние соединения PY-1205 на биоэлектрическую активность мозга частично перекрывается с эффектами классического каппа-агониста U-50488, однако вызывает менее выраженные изменения спектральной мощности и когерентности. В отличие от U-50488, для которого характерно повышение мощности низкочастотных ритмов на фоне снижения высокочастотных диапазонов, вещество PY-1205 не провоцировало столь выраженных изменений, что соответствует его более благоприятному поведенческому профилю. Когерентный анализ выявил снижение интракорткальных связей и усиление функциональных взаимодействий с миндалиной при введении U-50488, тогда как для соединения PY-1205 подобная картина не наблюдалась. На основании данных функциональной коннективности, обработанных с помощью методов машинного обучения, подтверждено, что соединение PY-1205 не обладает MAPK p38-ингибирующей активностью. В исследовании методом patch-clamp показано, что соединение PY-1205 конкурирует с U-50488 за общий сайт связывания на каппа-опиоидном рецепторе и устраняет усиление спайковой активности пирамидных нейронов миндалины,

характерное для аверсивного действия сбалансированных каппа-агонистов. При изучении локальных эффектов посредством микроинъекций в ключевые структуры мозга установлено, что основными звеньями реализации анальгезии являются околоводопроводное серое вещество и большое ядро шва. Противозудная активность соединения подтверждена в моделях острого серотонин-индуцированного зуда и хронического зуда в модели «сухой кожи» при отсутствии влияния на аллокенезис. Установлено, что вещество РУ-1205, в отличие от референсного каппа-агониста буторфанол, не вызывало седативных и стереотипогенных эффектов и не приводило к нарушениям рабочей памяти.

Отдельное направление исследования было посвящено поиску соединений с атипичной антипсихотической активностью среди производных бензимидазола с 5-HT<sub>2A</sub>-антагонистическим профилем. Применение QSAR-моделирования, фармакофорного анализа на основе белок-лигандного комплекса, гибкого молекулярного докинга и молекулярной динамики позволило установить основные структурно-функциональные закономерности связывания данных соединений с 5-HT<sub>2A</sub>-рецептором. Соединение РУ-31 формировало стабильный комплекс с рецептором за счет солевого мостика с ASP155,  $\pi$ - $\pi$ -стэкинга с TRP336 и RNE340, стабильность которого подтверждена в ходе молекулярно-динамических симуляций. На клеточном уровне методом patch-clamp установлено, что введение соединения РУ-31 уменьшало серотонин-индуцированный исходящий ток пирамидных нейронов слоя L6 медиальной префронтальной коры, что сопоставимо с эффектом клозапина. На нейросетевом уровне соединение восстанавливало нарушенные кетамином паттерны активности и функциональную связность в системе «медиальная префронтальная кора – гиппокамп». В поведенческих исследованиях соединение РУ-31 ослабляло позитивные и когнитивные симптомы в ряде валидированных моделей психотических расстройств, включая кетамин- и ЛПС-индуцированные модели, а также модель неонатальной деструкции вентрального гиппокампа. Вещество эффективно снижало локомоторную гиперактивность, вызванную про-психотическими агентами, улучшало показатели социального взаимодействия, распознавания нового объекта и спонтанного чередования. При этом отсутствие выраженного постсинаптического антагонизма в отношении D<sub>2</sub>-рецепторов подтверждено данными об отсутствии экстрапирамидных побочных эффектов, характерных для типичных нейролептиков. Анализ поведенческой активности с применением алгоритмов компьютерного зрения показал, что соединение РУ-31 превосходит клозапин по безопасности, вызывая менее выраженное угнетение локомоции и ориентировочно-исследовательского поведения, а в задаче спонтанного чередования в Т-образном лабиринте продемонстрирован более щадящий характер влияния на когнитивные параметры.

В рамках диссертационной работы выполнен поиск противосудорожных и нейропротективных средств среди новых галогенфенилзамещенных производных бензимидазола. QSAR-моделирование и гибкий молекулярный докинг показали, что соединение ВIF-72 характеризуется наилучшими расчетными параметрами связывания с каппа-опиоидным рецептором, формируя ключевые взаимодействия (солевой мостик с ASP138,  $\pi$ -стэкинг с TYR139), стабильность которых подтверждена молекулярно-динамическими симуляциями. Анализ биоэлектрической активности мозга с помощью модели автоэнкодера на базе сверточных нейронных сетей указал на функциональную близость электрофизиологического профиля соединения ВIF-72 с противосудорожными препаратами, при наибольшем сходстве с топираматом. Каппа-опиоидная агонистическая активность соединения ВIF-72 верифицирована на модели активации тромбоцитов методом малоуглового светорассеяния, где соединение продемонстрировало выраженную норбиналторфимин-обратимую активацию. В экспериментах *in vivo* вещество ВIF-72 существенно снижало частоту и выраженность судорог в моделях эпилептогенеза. В модели коразолового киндлинга вещество уменьшало тяжесть судорожных явлений и снижало летальность, в пилокарпиновой модели спонтанных рецидивирующих судорог сокращало

частоту тяжелых припадков. Показано, что действие соединения VIF-72 направлено не только на устранение судорог, но и на предотвращение развития эпилептогенных процессов в центральной нервной системе, что указывает на болезнь-модифицирующий характер его противозепилептического действия.

Нейропротективные свойства соединения VIF-72 проявляются в способности предотвращать гибель клеток в условиях ЛПС-индуцированного нейровоспаления на срезах гиппокампа и снижать объем ишемического очага при обратимой окклюзии средней мозговой артерии у крыс. Установлено, что одним из механизмов нейропротекторного действия является ингибирование продукции оксида азота (NO), что обеспечивает комплексный цитопротекторный эффект. Детальная оценка нейротоксикологического профиля, включавшая анализ влияния на координацию движений, мышечный тонус, когнитивные функции и аверсивные свойства, выявила у соединения VIF-72 относительно умеренное воздействие на центральную нервную систему в терапевтической дозе. Показатели координации и мышечного тонуса оставались близкими к контрольным значениям, аверсивные и эйфорические свойства у данного соединения не выявлены.

Таким образом, результаты настоящего диссертационного исследования подтверждают перспективность конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола в качестве многофункциональной платформы для создания новых нейропсихотропных средств. Разработанная методология комплексной оценки, объединяющая вычислительные методы *in silico* и биопотенциал-опосредованный подход с алгоритмами машинного обучения, может быть рекомендована для внедрения в практику доклинических исследований. Выявленные соединения-лидеры (каппа-опиоидный агонист РУ-1205, атипичный антипсихотик РУ-31 и антиэпилептогенное средство с нейропротективными свойствами VIF-72) обладают значительным терапевтическим потенциалом и улучшенным профилем безопасности по сравнению с препаратами сравнения. Построенные QSAR- и фармакофорные модели, а также разработанная база данных производных бензимидазола могут быть использованы для продолжения целенаправленного поиска и оптимизации новых нейропсихотропных соединений. Полученные данные обосновывают целесообразность проведения полного цикла доклинических исследований для каждого из выявленных соединений-лидеров.

## ВЫВОДЫ

1. Подтверждено, что конденсированные производные бензимидазола представляют собой перспективный класс химических соединений для разработки новых нейрорепрессивных средств. В рамках диссертационного исследования среди молекул с бензимидазольным кором идентифицированы и охарактеризованы селективный каппа-опиоидный агонист с анальгетической и противозудной активностью (соединение РУ-1205), атипичный антипсихотик с 5-НТ<sub>2А</sub>-антагонистической активностью (соединение РУ-31) и антиэпилептогенное средство с нейропротективными свойствами (соединение ВIF-72).
2. Методология *in silico* прогнозирования (QSAR-моделирование, включая построение ландшафтов активности и SAS-карт, фармакофорный анализ, молекулярный докинг и молекулярная динамика) в комбинации с биопотенциал-опосредованным подходом является эффективным инструментом для целенаправленного поиска и первичной характеристики нейрорепрессивных веществ. Данный метод позволяет на ранних этапах не только предсказывать фармакологические эффекты, но и с высокой точностью дискриминировать соединения по механизму действия.
3. Установлено, что соединение РУ-1205 проявляет центральные анальгетические свойства и косвенные признаки G-белок-смещенного сигналинга. При докировании вещества в каппа-опиоидный рецептор и симуляции молекулярной динамики выявлен солевой мостик с ASP138, а также устойчивые водородные связи (ASP138, GLN115, SER211) с характерными  $\pi$ -стэкинг-контактами (TYR139); при длительной МД (300 нс) установлены различия локальной подвижности внутриклеточных участков доменов, взаимодействующих с  $\beta$ -аррестином, по сравнению с U-50488, что согласуется с гипотезой смещенного сигналинга. На клеточном уровне (patch-clamp) показан конкурентный антагонизм вещества РУ-1205 с U-50488 по месту связывания (смещение кривой «доза-эффект» вправо без снижения  $E_{max}$ ), сопровождающийся устранением U-50488-индуцированного усиления спайковой активности пирамидных нейронов миндалины. Функционально это выражалось анальгетическим эффектом при микроинъекциях в PAG и NRM (дозы 5,6 и 1,6 мкг для соединения РУ-1205 и U-50488;  $n = 8$ ;  $p < 0,05$  во всех тестах), и противозудной активностью как при остром серотонин-индуцированном зуде (снижение медианы на 21,5 эпизода;  $p < 0,05$ ), так и в модели «сухой кожи» (снижение медианы на 23,5 эпизода;  $p < 0,05$ ), при отсутствии влияния на аллокнезис.
4. Обоснован благоприятный профиль безопасности соединения РУ-1205. В ходе мультипараметрической оценки поведения (10 отдельных паттернов;  $n = 9$ ) вещество не проявляло седативные и стереотипогенные эффекты в отличие от референсного каппа-агониста буторфанолола, который снижал скорость поступательного движения и подавлял элементы ориентировочно-исследовательского поведения ( $p < 0,001$ ), что может быть отнесено к  $\beta$ -аррестин-опосредованным побочным эффектам. При исследовании когнитивных функций нарушений рабочей памяти после введения соединения РУ-1205 в дозах 10 и 20 мг/кг не выявлено.
5. Экспериментально доказано, что соединение РУ-31 оказывает атипичное антипсихотическое действие, что объясняется селективным антагонизмом к 5-НТ<sub>2А</sub> рецепторам. Гибкий докинг и МД (100 нс) подтвердили стабильное связывание с 5-НТ<sub>2А</sub>-рецептором за счет ключевых взаимодействий: солевого мостика с ASP155 и  $\pi$ - $\pi$ -стэкинга с TRP336 и RHE340. В patch-clamp исследовании на пирамидных нейронах L6 mPFC введение 10 мкМ РУ-31 на 10 мин уменьшало 5-НТ-индуцированный исходящий ток на 59,11% (до  $20,54 \pm 7,12$  пА;  $n = 8$ ;  $p < 0,0211$ ), эффект сопоставим с клозапином ( $23,37 \pm 6,41$  пА;  $p < 0,0395$ ). На нейрофизиологическом уровне соединение РУ-31 восстанавливало нарушенные кетамином паттерны активности и связность в системе «mPFC-гиппокамп», а поведенчески ослабляло позитивные и когнитивные симптомы в

ряде валидированных моделей (кетамин-/ЛПС-индуцированный психоз, NVHL-модель), при этом не проявляя значительной активности в апоморфиновых моделях, что указывает на преобладание 5-HT<sub>2A</sub>-антагонизма при минимальном вовлечении D<sub>2</sub>-системы.

6. Подтвержден более безопасный нейротоксикологический профиль соединения РУ-31 по сравнению с клозапином: в задаче спонтанного чередования (Т-лабиринт, n = 10) соединение РУ-31 в дозе 20 мг/кг умеренно снижало %СЧ до 53,60 [45,75;59,45] (p < 0,05) при 73,15 [67,05;80,68] в контроле, тогда как клозапин (15 мг/кг) вызывал выраженное падение показателя до 28,95 [26,00;41,58] (p < 0,001). В ходе мультипараметрического анализа поведения фиксировалось меньшее угнетение локомоции и исследовательской активности при введении вещества РУ-31, а экстрапирамидные нарушения не регистрировались, что согласуется с отсутствием значимого антагонизма к D<sub>2</sub>-рецепторам.
7. Выявлено, что соединение ВIF-72 обладает нейропротективным и антиэпилептогенным действием. С помощью QSAR-моделирования и гибкого докинга показано, что вещество ВIF-72 взаимодействует с каппа-опиоидным рецептором с наилучшим докинг-скором (-9,230 ккал/моль), формирует ключевые связи (солевой мостик с ASP138, π-стэкинг с TYR139), стабильность которых подтверждена в ходе МД-симуляций. В ходе LFP-анализа с применением технологий машинного обучения показана близость 241 электрофизиологического профиля ВIF-72 с противосудорожными средствами при наибольшем сходстве с топираматом (0,847), что указывает на общность ключевых нейросетевых механизмов. В модели коразолового киндлинга соединение в дозе 20 мг/кг уменьшало тяжесть судорожных явлений (средний балл не превышал 2,5; p < 0,05) и снижало летальность (выживаемость к 31-му дню: 87% при введении вещества ВIF-72, 80% при введении топирамата в дозе 30 мг/кг и 53% в контроле;  $\chi^2$ , p < 0,05). В модели СРС после введения пилокарпина вещество ВIF-72 и топирамат сокращали частоту тяжелых припадков (p < 0,05). Для соединения ВIF-72 установлена способность предотвращать гибель клеток в условиях ЛПС-индуцированного нейровоспаления на срезах гиппокампа (p < 0,05) и снижать объем ишемического очага при окклюзии средней мозговой артерии у крыс на 32,73% по сравнению с контрольной группой животных (p < 0,05), в основе чего может лежать ингибирование соединением продукции оксида азота (II).
8. Показано, что применение соединения ВIF-72 не сопровождается выраженными побочными эффектами. В Т-лабиринте соединение в дозе 20 мг/кг не вызывало статистически значимого снижения рабочей памяти относительно контроля, тогда как повышение дозы до 40 мг/кг приводило к умеренному угнетению спонтанного чередования на 15,75% (p < 0,01), сопоставимому с эффектом топирамата 40 мг/кг (снижение на 19,75%; p < 0,01). При этом в тестах на вращающемся стержне и удержании на сетке соединение ВIF-72 не вызывало нарушений координации и мышечного тонуса. В тесте условного предпочтения места и по данным регрессионной LFP-модели соединение продемонстрировало нейтральный профиль, лишенный аверсивных и эйфорических свойств

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Продолжить направленный поиск и оптимизацию новых соединений с нейрорепродуктивной активностью в ряду конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола. Установленные в ходе исследования взаимосвязи «структура-активность», а также построенные QSAR- и фармакофорные модели целесообразно использовать в качестве валидированного инструмента для дизайна и скрининга новых молекул с заданными фармакологическими свойствами.
2. Рекомендуется завершить полный цикл доклинических исследований соединения-лидера РУ-1205 как анальгетика нового поколения с уникальным профилем безопасного селективного каппа-опиоидного агониста.
3. Целесообразно проведение углубленных доклинических исследований соединения РУ-31 с 5-HT<sub>2A</sub>-антагонистическим механизмом действия в качестве потенциального атипичного антипсихотика или адьювантного средства, способного корректировать позитивную и когнитивную симптоматику без развития экстрапирамидных нарушений.
4. Представляется перспективным проведение полных доклинических исследований соединения ВIF-72 в качестве нейрорепродуктивного и болезнь-модифицирующего противоэпилептического средства.
5. Разработанную методологию комплексной оценки нейрорепродуктивной активности, основанную на биопотенциал-опосредованном подходе с применением алгоритмов машинного обучения, рекомендуется внедрить в практику доклинических исследований в научно-исследовательских центрах и фармацевтических компаниях.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ, В  
ВЕДУЩИХ НАУЧНЫХ ЖУРНАЛАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ ВАК  
МИНОБРНАУКИ РОССИИ**

1. **Калитин К. Ю.** Антипсихотическая активность производного бензимидазола РУ-31 на моделях психоза у крыс / **К. Ю. Калитин, О. Ю. Муха** // **Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.** – 2025. – Т. 40, № 2. – С. 133-141.
2. **Kalitin K. Y.** The prefrontal cortex as a target for the atypical antipsychotic RU-31 with 5-HT<sub>2A</sub> antagonistic activity in the treatment of cognitive symptoms / **K. Y. Kalitin, O. Y. Mukha, V.B. Voynov, A. A. Spasov** // **Research Results in Pharmacology.** – 2025. – Т. 11. – №. 3. – С. 98-108.
3. **Калитин К. Ю.** Поиск веществ с атипичной антипсихотической активностью среди производных бензимидазола / **К.Ю. Калитин, О.Ю. Муха, В.Б. Войнов** // **Фармация и фармакология.** – 2025. – Т. 13. – № 3. – С. 157-170.
4. **Калитин К. Ю.** Влияние каппа-опиоидного агониста РУ-1205 на локальный полевой потенциал и поведение в модели дискриминации стимула / **К. Ю. Калитин, О. Ю. Муха, А. А. Спасов** // **Фармация и фармакология.** – 2025. – Т. 13. – № 2. – С. 98-110.
5. **Калитин К. Ю.** Противозепилептическая активность фторбифенилзамещенных имидазо[1,2-а]бензимидазолов / **К. Ю. Калитин, Г. В. Придворов, О. Ю. Муха, А. А. Спасов, О. Н. Жуковская** // **Экспериментальная и клиническая фармакология.** – 2025. – Т. – 88. – № 1. – С. 3 – 7.
6. **Kalitin K. Y.** Effects of kappa-opioid agonist U-50488 and p38 MAPK inhibitor SB203580 on the spike activity of pyramidal neurons in the basolateral amygdala / **K. Y. Kalitin, A. A. Spasov, O. Y. Mukha** // **Research Results in Pharmacology.** – 2024. – Т. 10. – №. 1. – С. 1-6.
7. **Калитин К. Ю.** Дизонтогенетические и травматические модели шизофрении на грызунах / **К. Ю. Калитин, А. А. Спасов, О. Ю. Муха** // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.** – 2023. – Т. 20. – № 4. – С. 28-36.
8. **Калитин К. Ю.** Фармакологические модели шизофрении у животных, применимые для изучения нейрорептиков / **К. Ю. Калитин, А. А. Спасов, О. Ю. Муха, Г. В. Придворов** // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.** – 2023. – Т. 20. – №. 2. – С. 20.
9. **Калитин К. Ю.** Электрофизиологическое исследование каппа-опиоидного анальгетика РУ-1205 с применением методов машинного обучения / **К. Ю. Калитин, А. А. Спасов, О. Ю. Муха** // **Фармация и фармакология.** – 2024. – Т. 11. – №. 5. – С. 432-442.
10. **Калитин К. Ю.** Подходы к изучению каппа-опиоидных лигандов на моделях нейровоспаления / **К. Ю. Калитин, А. А. Спасов, О. Ю. Муха** // **Фармация и фармакология.** – 2023. – Т. 11. – №. 1. – С. 4-18.
11. **Kalitin K. Y.** Aversion-related effects of kappa-opioid agonist U-50488 on neural activity and functional connectivity between amygdala, ventral tegmental area, prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens / **K. Y. Kalitin, A. A. Spasov, O. Y. Mukha** // **Research Results in Pharmacology.** – 2023. – Т. 9. – №. 4. – С. 21-29.
12. **Калитин К. Ю.** Влияние каппа-опиоидных агонистов буторфанола и соединения РУ-1205 на биоэлектрическую активность мозга при глобальной ишемии / **К. Ю. Калитин, Г. В. Придворов, А. А. Спасов, О. Ю. Муха** // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.** – 2022. – Т. 19. – №. 3. – С. 128-133.
13. **Калитин К. Ю.** Влияние клозапина и 5-HT<sub>2A</sub>-антагониста РУ-31 на электроэнцефалограмму и двигательную активность крыс в модели шизофрении с неонатальным разрушением вентрального гиппокампа / **К. Ю. Калитин, Г. В. Придворов, А. А. Спасов, О. Ю. Муха** // **Кубанский научный медицинский вестник.** – 2022. – Т. 29. – №. 5. – С. 108-122.

**СВИДЕТЕЛЬСТВА О РЕГИСТРАЦИИ БАЗЫ ДАННЫХ И ПРОГРАММ ЭВМ**

1. **Калитин К.Ю.** Производные бензимидазола с нейротропным и психотропным действием / К.Ю. Калитин, А.А. Спасов, Г.В. Придворов, О.Ю. Муха, Л.В. Горюнова, В.В. Коломышев, А.М. Ширшина, А.Д. Матвеев, О.В. Кузьминов // Свидетельство о регистрации базы данных RU 2023624590, 12.12.2023. Заявка от 18.11.2023.
2. **Калитин К.Ю.** Программа для QSAR-анализа и количественного определения химического сходства / Г.В. Придворов, К.Ю. Калитин, О.Ю. Муха, Д.А. Бабков // Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2024667393, 24.07.2024. Заявка от 01.08.2024.
3. **Калитин К.Ю.** Программа для биопотенциал-опосредованного прогнозирования эффектов и механизма действия нейроактивных веществ / А.А. Невзоров, К.Ю. Калитин, Г.В. Придворов, О.Ю. Муха, Д.А. Бабков // Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2024668408, 24.07.2024. Заявка от 06.08.2024.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- 5-ГТФ – 5-гидрокситриптофан  
 в/б – внутрибрюшинно  
 ГАМК – гамма-аминомасляная кислота  
 ИР – ишемия-реперфузия  
 и.ц.в. – интрацеребровентрикулярно  
 КОР – каппа-опиоидный рецептор  
 ЛПС – липополисахарид  
 МД – молекулярная динамика  
 СРС – спонтанные рецидивизирующие судороги  
 СЧ – спонтанные чередования  
 УРИМ– условнорефлекторная реакция избегания места  
 ЦНС – центральная нервная система  
 ЭКоГ – электрокортикография  
 ЭЭГ – электроэнцефалография  
 5-НТ (5-hydroxytryptamine) – 5-гидрокситриптамин, серотонин  
 ADME-T (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity) – абсорбция, распределение, метаболизм, выведение, токсичность  
 GPC (Gaussian Process Classifier) – классификатор на гауссовских процессах  
 LFP (Local Field Potentials) – локальные полевые потенциалы  
 MAPK (p38) (Mitogen-Activated Protein Kinase p38) – митоген-активируемая протеинкиназа p38  
 PCA (Principal Component Analysis) – метод главных компонент  
 PPI (PrePulse Inhibition) – препульсовое ингибирование  
 QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationships) – количественные соотношения «структура–активность»  
 $R^2$  (coefficient of determination) – коэффициент детерминации  
 RMSE (Root Mean Square Error) – среднеквадратичная ошибка  
 RMSF (Root Mean Square Fluctuation) – среднеквадратичная флуктуация  
 SAR (Structure–Activity Relationships) – соотношения «структура–активность»  
 UMAP (Uniform Manifold Approximation and Projection) – равномерная аппроксимация и проекция многообразия  
 wPLI (weighted Phase-Lag Index) – взвешенный индекс фазовой задержки

Калитин Константин Юрьевич

**НЕЙРОПСИХОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ И  
НЕКОНДЕНСИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА**

3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук