

*На правах рукописи*

ТАРАН АЛЁНА СЕРГЕЕВНА

**НЕЙРОПСИХОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДНЫХ  
ДИАЗЕПИНО[1,2А]БЕНЗИМИДАЗОЛА**

**14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**ВОЛГОГРАД, 2017**

Работа выполнена на кафедре фармакологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Научный руководитель:**

**Спасов Александр Алексеевич** Заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты:**

**Воронина Татьяна Александровна** Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией психофармакологии ФГБНУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова

**Резников Константин Михайлович** Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России

**Ведущая организация:** ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Защита диссертации состоится «\_\_\_\_\_» декабря 2017 года в «\_\_\_\_\_» часов на заседании Диссертационного совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1 и на сайте [www.volgmed.ru](http://www.volgmed.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного Совета,  
доктор биологических наук

Бугаева Любовь Ивановна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы

Тревожные расстройства представляют собой значимую медицинскую проблему. Распространенность таких заболеваний растет с каждым годом, и актуальным является поиск и разработка новых анксиолитических препаратов. [Берестовицкая В.М., 2014; Horton D.A., 2003; Воронина Т.А., 2016; Середенин С.Б., 2009]

Перспективным направлением при получении биологически активных веществ является выявление новых структур и создание комбинированных соединений. Выявление фармакофора является первым важным шагом к пониманию взаимодействия между рецептором и лигандом. Как только фармакофор установлен, в 3D-базе данных начинается поиск новых соединений, которые соответствовали бы фармакофору, не обязательно дублируя признаки известных активных соединений. [Kaur G., 2014; Keri R.S., 2014; Kurogi Y., 2001] В качестве ключевой концепции создания новых веществ используют привилегированные структуры и подструктуры, которые входят в состав огромного числа известных лекарственных препаратов. [Duarte C.D., 2007; Horton D.A., 2003; DeSimone R.W., 2004; Поройков В.В., 2006] На их основе выделяют активные скаффолды, обладающие рядом фармакологических и биологических активностей, комбинация которых, возможно, приведет к получению высокоэффективных соединений. Используя существующие в настоящее время материальные и информационные ресурсы, возможно предсказать необходимые виды активности, как у новых синтезированных соединений, так и соединений, находящихся на стадии компьютерного моделирования. [Филимонов Д.А., 2014; Gunter B.W., 2016]

Определенный интерес представляют производные диазепинобензимидазола, полученные путем комбинации двух привилегированных подструктур – диазепина и бензимидазола, которые обладают широким спектром фармакологических активностей. [Evans C.W., 2015; Bansal Y., 2012; Anandarajagopal K., 2010; Narasimhan B., 2012; Aastha P., 2013; Gunter B.W., 2012; Bostwick J.R., 2012; Петров В.И., 2010; Зефиоров Н.С., 2016]

Актуальным и целесообразным стало изучение новых соединений на ряд фармакологических активностей – анксиолитическую, анальгетическую, снотворную, антидепрессантную, противосудорожную. На основании концепции привилегированных структур объединение двух скаффолдов бензимидазола и диазепина предположительно должно привести к получению высокоэффективных препаратов с низким риском развития нежелательных эффектов.

### Степень разработанности

На сегодняшний день для производных бензимидазола доказано участие в регуляции значительного количества патологических состояний, так как они обладают широким спектром фармакологической активности – противоаритмическая [Keri R.] S., 2015], антигистаминная [Bansal Y., Silakari O., 2012], противовоспалительная [Gaba M., 2015], анальгетическая [Mohammed A.F., 2013], противовирусная [Nowicka A., Nawrocka W.P., 2013], антибактериальная [Zhang Z.,

2012], противосудорожная [Anandarajagopal K., 2010], анксиолитическая [Разумная Ф.Г., 2014], антидиабетическая [Чепляева Н.И., 2014] и другие.

Производные диазепина также являются соединениями, проявляющими различные фармакологические свойства – анальгетические [Хазиахметова В.Н., 2015], антитромботические [Duarte C.D., 2007], анксиолитические [Яркова М.А., 2011], снотворные [Озеров А.А., 2012], противовирусные [Шайкенов Т.Е., 2005], противоопухолевые [Gunter B.W., 2016], противосудорожные [Aastha P., 2013], противовоспалительные [Kurogi Y., Guner O.F., 2001].

Концепция объединения привилегированных структур – новое направление в синтезе новых лекарственных препаратов, а производные диазепинобензимидазола являются малоизученным классом соединений.

### **Цель исследования**

Изучение нейрорепродуктивных свойств нового класса химических соединений - производных диазепинобензимидазола.

### **Задачи исследования**

1. Провести прогноз в системе PASS новых производных диазепинобензимидазола на наличие фармакологической активности.
2. Изучить влияние новых производных диазепинобензимидазола на анксиолитическую активность в тесте приподнятого крестообразного лабиринта, проанализировав зависимости между структурой и функциональной активностью изучаемых соединений по поведению животных в тесте приподнятый крестообразный лабиринт с применением логико-структурных методов.
3. Изучить влияние производных диазепинобензимидазола на двигательную активность мышей в установке «актометр».
4. Оценить влияние производных диазепинобензимидазола в тестах: гексеналового сна, принудительного плавания по Porsolt, коразоловых судорог и на установке «Горячая пластина».
5. Оценить влияние производных диазепинобензимидазола на ДПП-4 ингибирующую активность *in vitro*.
6. Провести анализ зависимости между структурой и функциональной активностью изучаемых соединений по способности ингибировать фермент ДПП-4 с применением логико-структурных методов.
7. Изучить влияние наиболее активного соединения в тестах приподнятый крестообразный лабиринт и темная/светлая камера, в тесте гексеналового сна, коразоловых судорог, проявление анальгетической активности на установке «Горячая пластина» и модели одергивания хвоста на установке «Tail flick».
8. Изучить нежелательное влияние наиболее активного соединения на двигательную координацию и мышечно-расслабляющее действие, локомоторную активность, острую токсичность.
9. Провести фармакологический анализ наиболее активного соединения и оценить влияние флумазенила на поведение животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

### **Научная новизна**

Впервые были изучены психонейротропные свойства нового класса химических соединений - производных диазепинобензимидазола. В ходе работы *in silico* проведен анализ изучаемых соединений на различные виды фармакологических активностей: антидепрессантная, анксиолитическая, противосудорожная, анальгетическая и ДПП-4 ингибиторная. В экспериментальных исследованиях подтверждено наличие у данного класса соединений наличие анксиолитической, противосудорожной, ДПП-4 ингибирующей, анальгетической активностей.

В результате проведенных экспериментов выявлено, что соединение ДАБ-19 по уровню анксиолитической активности превосходит диазепам. Установлена способность экспериментального соединения эффективно снижать болевые ощущения в тесте «горячая пластина». Получены данные об отсутствии у соединения ДАБ-19 миорелаксирующего эффекта на установках сетка и проволока, а также гипногенного свойства в тесте гексенал-индуцированного сна. Выявлена способность соединения ДАБ-19 снижать летальность при коразоловой интоксикации. Впервые изучено влияние антагониста бензодиазепиновых рецепторов флумазенила на поведение животных, которым вводили соединение ДАБ-19.

Среди производных диазепинобензимидазола выявлены соединения ДАБ-13, ДАБ-15 и ДАБ-24, которые при спектрофотометрическом исследовании *in vitro*, ингибировали активность фермента ДПП-4.

### **Научно-практическая значимость работы и реализация результатов исследования**

Выявленные в ходе проведенного исследования закономерности между анксиолитической активностью производных диазепинобензимидазола и их структурой и физико-химическими свойствами расширяют знания и могут быть полезны при целенаправленном поиске новых соединений с транквилизирующей активностью.

Установленные для соединения ДАБ-19 эффекты, связанные с возможностью снижать летальность при судорогах, снижать болевые ощущения, а также отсутствие нежелательных реакций, позволяют рекомендовать продолжение доклинического цикла исследований для соединения под лабораторным шифром ДАБ-19.

Результаты выявленных закономерностей между структурной и физико-химической характеристикой исследованного ряда производных диазепинобензимидазола с их анксиолитической и ДПП-4 ингибиторной активностью внедрены в работу по оптимизации синтеза соединений с целью получения более эффективных соединений с низким риском развития побочных эффектов, которая проводится на базе НИИ физической и органической химии Южного Федерального университета. Результаты работы внедрены в лекционные курсы на кафедрах фармакологии, фармакологии и биофармации ФУВ, фармацевтической и токсикологии.

кологической химии Волгоградского государственного медицинского университета.

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

1. Производные diaзепинобензимидазола – новая группа соединений, проявляющих психотропную и ДПП-4 ингибирующую активности
2. Соединение ДАБ-19 - 11-[4-трет-бутилбензил]-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола гидробромид проявляет анксиолитическую, противосудорожную, анальгетическую активности, не влияет на локомоторную активность, не имеет гипногенного эффекта.
3. Анксиолитическая активность соединения ДАБ-19 блокируется антагонистом бензодиазепиновых рецепторов флумазенилом.

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ зарубежных и отечественных источников литературы. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования по изучению фармакологической активности, анксиолитического и ДПП-4 ингибирующего действия новых производных diaзепинобензимидазола: решения поставленных задач, обсуждения результатов, разработке практических рекомендаций. Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований на всех его этапах. При написании диссертационной работы автором выполнен сбор первичных данных, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и практических рекомендаций, оформление рукописи.

### **Апробация работы**

Основные результаты диссертационной работы были представлены на научно-практических конференциях: 72, 73, 74, 75 открытые научно-практические конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2014-2017 гг.), Всероссийская конференция молодых ученых с международным участием «Достижения современной фармакологической науки», посвященная 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова, Школы фармакологов и клинических фармакологов (Рязань, 2015 г.), XXI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (Москва 2014 г.).

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 2 в журналах, рекомендованных ВАК. Получен 1 патент РФ на изобретение (RU 2629022) и 1 положительное решение о выдаче патента РФ на изобретение.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 178 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 5 глав собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, научно-практические рекомендации, список литературы, содержащий 190 источников, из них 49 отечественных и 141 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 19 рисунками и содержит 30 таблиц.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**В первой главе** приведены данные отечественных и зарубежных исследований о новом направлении поиска лекарственных средств путем выделения привилегированных подструктур. [Horton D.A.; 2003, DeSimone R.W.; 2004, Duarte C.D.; 2007, Берестовицкая В.М., 2014] Привилегированная подструктура является базовым ядром молекулы и входит в состав многих биологически активных гетероциклических соединений, для них определен широкий спектр фармакологических активностей, таких как противомикробная, противовирусная, противопаразитарная, противоопухолевая, противовоспалительная, антиоксидантная, гипотензивная, антикоагулянтная, иммуномодулирующая. [Polanski J., 2012; Keri R.S., 2014] В результате изучения большого числа лекарственных препаратов было выявлено наличие в их структуре часто встречающихся фрагментов, которые отвечают ряду правил, определяющих их лекарственное подобие. [Duarte C.D., 2007; Bongarzone S., 2011] Достаточно широко представлены изучающиеся привилегированные подструктуры и соединения, содержащие определенные скаффолды, с описанием их фармакологических активностей. Поиск новых перспективных фармакологически активных веществ является мультикритериальной задачей, поскольку, наряду с наличием целевой специфической активности, необходимо обеспечить минимум побочных и токсических эффектов и приемлемые фармакокинетические характеристики потенциального препарата.

Благодаря концепции синтеза ориентированного разнообразия на основе привилегированных структур, чтобы максимизировать покрытие химического пространства с высокой биологической релевантностью, было предусмотрено творческое построение полигетероциклов, внедренных с привилегированными субструктурами, посредством реакций комплексообразования. Так в медицинской химии и фармакологии используют комплексы, образованные двумя и более привилегированными скаффолдами. [Welsch M.E., 2010; Bongarzone S., 2011]

В клинической практике активно используют препараты бензодиазепинового ряда [Яркова М.А., 2011; Хазиахметова В.Н., 2015; Gunter V.W., 2016], но их применение ограничено наличием побочных эффектов и возникновением лекарственной зависимости [Bostwick J.R., 2012; Mitra S., 2013]. У производных бензимидазола выявлено наличие широкого спектра фармакологической активности и минимального риска развития нежелательных реакций. [Галенко-Ярошевский А.П., 2009; Chaybey A., 2011; Киселев А.В., 2013; Галенко-Ярошевский П.А., 2015; Asif M., 2016] Путем комбинации привилегированных структур бензимидазола и диазепина был получен новый класс химических соединений – производ-

ные diazepino[1,2a]benzimidazole, у которого предполагаются различные биологические свойства и низкий риск проявления побочных эффектов.

**Вторая глава** диссертации посвящена описанию материалов и методов исследования, которое было выполнено в 3 этапа

На первом этапе проводили компьютерный прогноз *in silico* возможного спектра фармакологических активностей с помощью системы PASS (Филимонов Д.А., Поройков В.В., 2006).

На втором этапе было проведено изучение новых производных diazepino-benzimidazole на наличие анксиолитических, ДПП-4 ингибиторных, гипногенных, антидепрессантных и противосудорожных свойств.

На третьем этапе соединение ДАБ-19 подвергалось углубленному изучению, так как проявило наибольшую анксиолитическую активность в тесте поднятого крестообразного лабиринта. Исследование проводили с целью подтверждения наличия фармакологических свойств с вычислением средней терапевтической дозы, определения острой токсичности и терапевтического индекса, а также фармакологического анализа вещества.

Исследования проведены на 1234 белых мышках-самцах массой 19-30 г. Животные содержались в условиях вивария кафедры фармакологии ВолгГМУ с естественным световым режимом при относительной влажности воздуха 40-50% и температуре 22-24°C на стандартной полнорационной диете для лабораторных животных (ГОСТ Р 50258-92). Содержание животных и экспериментальные манипуляции отвечали Международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (2010 г.), а также правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (приказ Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденным Главным Государственным санитарным врачом 29.08.2014 г. № 51.

Все исследования были одобрены к проведению Региональным независимым этическим комитетом при ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр»: протокол № 191-2014 от 25 февраля 2014 года.

В работе изучали нейрорепродуктивную активность 23 новых производных diazepino[1,2a]benzimidazole<sup>1</sup> - 11-ацетилметил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола гидробромиды и 11-R-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола гидрогалогениды.

---

<sup>1</sup> *Выражаем искреннюю признательность и благодарность сотрудникам лаборатории синтеза биологически активных соединений Морковник А.С., Анисимовой В.А., Диваевой Л.Н., Кузьменко Т.А., Коцценко Ю.В., Богославцевой М.В. за синтез и предоставление субстанций веществ производных diazepino[1,2-а]benzimidazole для настоящего исследования.*

Изучение нейропсихотропных эффектов<sup>2</sup> новых производных диазепаино[1,2a]бензимидазола проведено с использованием стандартных моделей и методов, изложенных в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» - Фармакологический государственный комитет, МЗ РФ, Москва, 2005, «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» - ч. 1, Москва, 2012: «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «темная/светлая камера», «принудительное неизбежное плавание» по Порсолту, «пролонгирование снотворного действия гексенала», «подвешивание на горизонтальной сетке», «удержание на проволоке», «удержание на установке Ротарод», «двигательная активность в актометре», «противосудорожный эффект при интоксикации коразолом», «анальгетический эффект на установке горячая пластина», «реакция одергивания хвоста на установке «Tail flick», «действие на судорожный эффект пикротоксина», «влияние на эффекты L-ДОФА», «влияние на эффекты апоморфина», «влияние на каталептогенный эффект галоперидола», «действие блокатора бензодиазепиновых рецепторов на эффект исследуемых соединений».

На различных этапах исследования применяли следующие вещества и препараты сравнения: *диазепам* – 2 мг/кг (в виде раствора, Simplex pharma Pvt. Ltd.; Реланиум, «Польфа», Польша), *амитриптилин* (10 мг/кг) (р-р 10 мг/мл; ФГУП «Московский эндокринный завод», Москва, Россия); *имипрамин* (15 мг/кг) (Мелипрамин, р-р 25 мг/2 мл; ОАО Фармацевтический завод ЭГИС, Будапешт, Венгрия); *гексенал* (60 мг/кг) (ООО «МедПро Инк», Латвия); *коразол* (80 мг/кг) («Sigma», США); *буторфанол* (1 мг/кг) («Московская фармацевтическая фабрика», Россия); *флумазенил* (1 мг/кг) (ACS, США); *L-ДОФА* («Sigma», США). Применялись также: *ситаглиптин* («Sigma», США), *вилдаглиптин* (Галвус 50 мг., «Novartis Pharma», Швейцария), *Гли-Про-р-нитроанилид* (Sigma, США), *Трис-НСI*, *натрия хлорид 0,9%* («Эском», Россия).

На каждом этапе исследования формировались контрольные группы животных, которые получали физ.раствор в эквивалентном объеме.

Нейрофармакологический анализ производных диазепаинобензимидазола *in vivo* проводили в тестах по изучению влияния тестируемого соединения на эффекты агонистов и антагонистов основных нейромедиаторных систем ЦНС (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2012). Использовались: *пикротоксин* 2,5 мг/кг, *апоморфин* 1 мг/кг (Sigma, США), *галоперидол* 1 мг/кг («Мосхимфармпрепараты», Россия).

С целью нейрофармакологического анализа специфического психостимулирующего действия производных диазепаинобензимидазола оценивали его влияние на спонтанную локомоторную активность мышей с использованием актометра фирмы Activity cage 7401.

При парном сравнении независимых данных использовались Т-тест и тест Манна-Уитни, для анализа зависимых данных использовали тест Вилкоксона.

---

<sup>2</sup> Выражаем искреннюю признательность и благодарность за оказанную методическую помощь в проведении экспериментальных исследований старшему преподавателю кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ Д.В. Мальцеву.

Достоверность величины IC50 оценивалась методом линейного регрессионного анализа. Для многопараметровых исследований статистическая обработка результатов проводилась с использованием теста Вилкоксона, критерия Краскела-Уолиса с постобработкой тестом Данна, либо с использованием однофакторного дисперсионного анализа и теста Ньюмана-Кеулса в случае нормального распределения данных. Результаты динамических наблюдений обсчитывались с помощью двухфакторного ANOVA метода. Обсчет реализован в программе GraphPad Prism 5.0 и «Microsoft Excel 2002».

**В третьей главе** представлены результаты компьютерного прогноза в тест-системе PASS производных диазепино[1,2a]бензимидазола.

По результатам прогноза производные диазепинобензимидазола проявили широкий спектр вероятных видов активности (названия видов активностей приводится в редакции системы PASS):

1. нейропсихотропные эффекты – психотропная, лечение расстройств настроения, лечение фобий, антидепрессантная, лечение острых неврологических расстройств, анксиолитическая, ноотропная, антиневроотическая, противосудорожная, лечение нейродегенеративных заболеваний, анальгетическая;
2. влияние на сердечно-сосудистую систему – антиишемическая, вазодилатационная, лечение инфаркта миокарда, кардиотоническая, антимигренозная;
3. иммулотропные эффекты – лечение аллергического конъюнктивита, антиэкзематическая, противозудная;
4. другие прогнозируемые менее значимые эффекты - антинеуротоксическая, лечение заболеваний репродуктивной системы, стимулирующая функции почек, антидискинетическая, антидиабетическая, антиостеопоротическая, лечение офтальмологических заболеваний, антинефротоксическая.

**Четвертая глава** содержит описание результатов изучения нейропсихотропных свойств производных нового класса диазепино-[1,2a]бензимидазола, так как одной из привилегированных подструктур, входящих в состав соединений, является диазепиновый фрагмент, взаимодействующий с бензодиазепиновыми рецепторами и в результате проявляющий анксиолитический, противосудорожный и седативный эффекты. [Бобров А. Е., 2012; Kumaraswamy M. N., 2013; Longo L., 2000] А также в связи с актуальностью изучения ДПП-4 ингибирующей активности были изложены результаты скрининга и анализа зависимости активности от химической структуры, так как среди прогнозируемых свойств новых производных выявлена вероятность наличия антидиабетического эффекта, а психотропные средства, применяемые в клинической практике способны ингибировать фермент ДПП-4 [Krupina N. A., 2011].

На этапе скрининга производные диазепино[1,2a]бензимидазола использовали в дозах эквимольных 2 мг/кг препарата сравнения диазепам.

Наличие анксиолитической активности изучали в тесте приподнятого крестообразного лабиринта. Основным показателем оценки транквилизирующего эффекта было выбрано время нахождения животных в открытом рукаве установ-

ки ПКЛ. Все изученные соединения демонстрировали различный уровень влияния на поведение мышей. Вещества разделили на 4 группы в зависимости от проявляемого эффекта: высоко активные соединения – то есть превосходящие по активности препарат сравнения; активные соединения, сопоставимые показателям препарата сравнения; соединения с умеренной активностью – уступающие диазепаму, но превосходящие показатели контрольной группы и неактивные. Среди изученных производных диазепино[1,2a]бензимидазола только 3 соединения - ДАБ-18 ( $95,2 \pm 23,32$  сек.), ДАБ-19 ( $124,0 \pm 12,06$  сек.) и ДАБ-23 ( $89,2 \pm 11,52$  сек.) превосходили влияние препарата сравнения диазепама ( $74,5 \pm 19,32$  сек.) по времени нахождения животных в открытом рукаве. Еще 5 соединений по эффективности не отличались от препарата сравнения, 2 соединения уступали эффекту диазепама, и 4 исследуемых вещества оказались неактивными.

В ходе исследования отмечалась зависимость проявляемой активности изучаемых соединений от их химической структуры. Исследуемые вещества относятся к двум классам производных диазепино[1,2a]бензимидазола, а именно: 11-R-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола гидрогалогениды и 11-ацилметил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола гидрогалогениды.

В результате исследования самым активным соединением является вещество, относящееся к группе производных 11-R-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола под лабораторным шифром ДАБ-19, так как при введении его животным снижались признаки естественного страха – животные находились в открытом рукаве крестообразного лабиринта дольше, чем под действием препарата сравнения. При анализе выявлено, что диазепинобензимидазольный скаффолд связан коротким линкером (-CH<sub>2</sub>-) с бензольным кольцом, у которого триметильный заместитель находится в пара-положении. Если основной каркас связать с таким же радикалом метоксо-группой (ДАБ-26,  $53,8 \pm 19,47$  сек.), то время нахождения животных в открытом рукаве снизится более чем в 2 раза. Если триметильную группу заменить электроотрицательным атомом хлора (ДАБ-13,  $66,4 \pm 16,01$  сек.), то активность соединения будет соответствовать препарату сравнения. Замещение атома хлора на более электроотрицательный атом фтора приведет к резкому снижению анксиолитической активности соединения (ДАБ-25,  $3,4 \pm 2,93$  сек.).

В случае связи диазепинобензимидазольного каркаса с атомом азота морфолинового цикла посредством этильной цепи анксиолитическая активность соединения (ДАБ-23) также превышает препарат сравнения. Если этот атом азота находится в раскрытой структуре диэтиламина, активность соединения (ДАБ-20,  $87,9 \pm 24,30$  сек.) незначительно снижается, но по эффективности не уступает диазепаму.

При изучении группы производных 11-ацилметил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола установлено, что в структуре наиболее активного соединения диазепинобензимидазольный скаффолд соединяется с пирокатехолом альдегидной группой, что является показателем высокой реакционной способности (ДАБ-18). Замещение гидроксо-групп в радикале на метоксо-группы (ДАБ-17,  $77,0 \pm 36,19$  сек.) снижает время нахождения животных в откры-

том рукаве. Если через альдегидную группу diaзепинобензимидазольный каркас молекулы будет соединен с триметильным радикалом (ДАБ-7,  $81,0 \pm 11,68$  сек.), то незначительно снижается анксиолитическая активность соединения.

Удлинение цепи, связывающей бензольный радикал с diaзепинобензимидазольным скаффолдом (ДАБ-24,  $45,0 \pm 23,07$  сек.), гетероатомом азота также снижает транквилизирующую активность. Замещение в пара-положении радикала гидроксильной группы электроотрицательным атомом хлора так же не приводит к усилению анксиолитического действия.

Таким образом, анализ группы производных 11-ацилметил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола выявил, что наибольшей активностью обладают соединения с бензольным радикалом, подобно производным бензодиазепина [Разумная Ф. Г., 2014; Силкина И. В., 2005], у которых заместители гидроксо- и метоксо- группы находятся в 3 и 4 положении, а так же бензольный радикал замещен на триметильный. Встраивание в мета-положения триметильных заместителей и электроотрицательного атома в пара-положение бензольного кольца приводит к резкому снижению активности соединений, так же как и удлинение линкера, между diaзепинобензимидазольным каркасом молекулы и радикалом.

Наибольшая активность в группе производных 11-R-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола отмечена у соединения с короткой цепью, соединяющей diaзепинобензимидазольный скаффолд и циклический радикал. Появление в структуре радикала электроотрицательных атомов галогенов - фтора и хлора приводило к снижению активности исследуемых соединений, так же как включение метоксо-группы в связующую цепь.

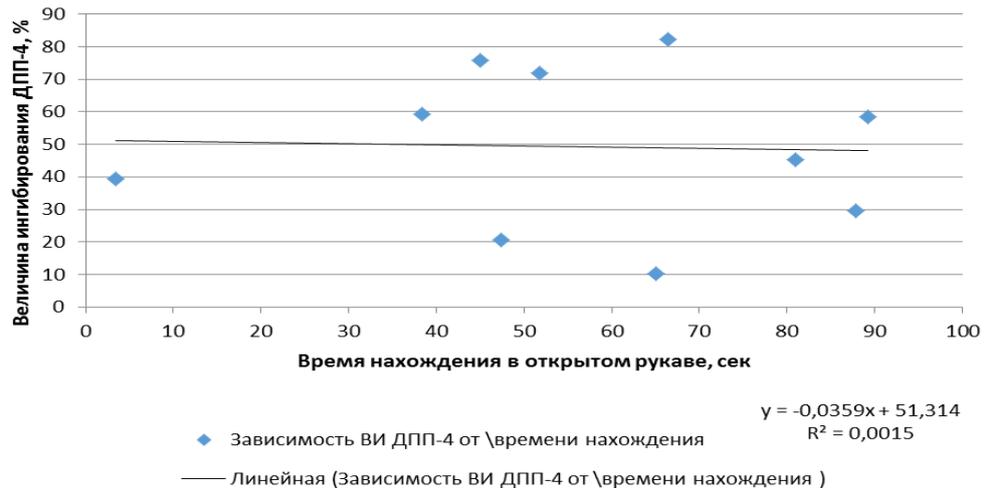
Так как многими исследованиями подтверждены ДПП-4 ингибирующие свойства<sup>3</sup> веществ, проявляющих анксиолитическую активность [Krupina N.A., 2011], была проведена корреляция между изученными эффектами производных diaзепино[1,2a]бензимидазола (рисунок 1). В результате статистической обработки корреляционной зависимости между двумя видами активности не выявлено, однако, производные diaзепинобензимидазола остаются достаточно перспективным классом соединений для дальнейшего изучения на наличие не только анксиолитической, но и ДПП-4 ингибирующей активности.

Большинство соединений, содержащих в своей химической структуре diaзепиновый фрагмент отличаются наличием таких побочных эффектов как седативный и миорелаксирующий [Longo L., 2000; Бобров А. Е., 2012], в связи с этим было проведено исследование, позволившее установить отсутствие у производных изучаемой группы diaзепино[1,2a]бензимидазола снижения локомоторной активности в установке актометр.

Количество переходов животных, которым вводили экспериментальные субстанции, находилось в пределах контрольных значений, что позволяет сделать вывод об отсутствии влияния производных diaзепинобензимидазола на двигательную активность.

---

<sup>3</sup> Исследование по изучению влияния соединений на активность фермента ДПП-4 проводилось в рамках Гранта РФФ № 14-25-00139



**Рисунок 1. Зависимость величины ингибирования ДПП-4 от анксиолитического эффекта (времени нахождения в открытом рукаве ПКЛ).**

Отмечено, что в группе препарата сравнения, у животных, получавших диазепам (2 мг/кг), сокращалось количество переходов в актометре, а значит, препарат сравнения снижал двигательную активность испытуемых, что подтверждает литературные данные. Таким образом, полученные результаты доказывают отсутствие нежелательной реакции – снижения локомоторной активности, характерного для диазепиновых препаратов.

У производных диазепаина, применяемых в клинической практике, отмечается высокий риск развития такого неблагоприятного эффекта как прогипногенное действие [Longo L., 2000; Бобров А. Е., 2012], поэтому в ходе исследования было проведено изучение влияния нового класса производных диазепино[1,2a]бензимидазола на гексеналовый сон. В результате работы экспериментальные субстанции при однократном внутрибрюшинном введении проявили различное влияние на продолжительность сна и время засыпания. В группе, получавшей инъекцию препарата сравнения диазепама в дозе 2 мг/кг, у животных сокращалось латентное время засыпания, и достоверно увеличивалась продолжительность гексеналового сна, то есть проявлялось наличие прогипногенного эффекта. Однако в опытных группах, которым вводили производные диазепино[1,2a]бензимидазола, эффекты отличались, но большинство соединений (ДАБ-8, ДАБ-18, ДАБ-19, ДАБ-31) прогипногенным эффектом не обладало. Отсутствие снотворного действия производных нового класса соединений подтверждает актуальность исследования.

В тесте принудительного плавания по Porsolt среди исследуемых производных диазепино[1,2a]бензимидазола были обнаружены соединения, снижающие состояние отчаяния относительно контрольной группы животных (ДАБ-8, ДАБ-21, ДАБ-31), демонстрируя снижение в 1,6 раз времени иммобильности животных, которым однократно внутрибрюшинно вводили исследуемые субстанции, но не превосходящие по эффективности препараты сравнения имипрамин (10 мг/кг) –  $32,3 \pm 3,40$  сек. и amitriptilin (15 мг/кг) –  $43,7 \pm 9,03$  сек. Также выявлены соединения, которые не влияют на время иммобильности животных (ДАБ-

19). Введение животным диазепама (2 мг/кг) продлевало период иммобильности животных, что указывало на развитие депрессогенного эффекта. Таким образом, исследуемые соединения не оказывают антидепрессантное действие.

При изучении влияния производных диазепино[1,2а]бензимидазола на противосудорожную активность, которая проявляется у соединений, содержащих диазепиновый скаффолд в химической структуре, было установлено, что большинство вводимых субстанции сокращает латентное время развития судорог, уступая по эффективности препаратам сравнения вальпроату натрия (90 мг/кг) и диазепаму (2 мг/кг). Однако, выявлены вещества (ДАБ-19, ДАБ-23), однократное введение которых снижает летальность животных при введении коразола, превосходя по активности вальпроат натрия. В результате исследования можно сделать вывод о перспективности изучения производных диазепинобензимидазола как соединений, влияющих на ГАМК-систему.

Руководствуясь результатами компьютерного прогноза было проведено исследование анальгетической активности ряда производных диазепино[1,2а]бензимидазола, в результате чего были выявлены соединения (ДАБ-21, ДАБ-31), введение которых увеличивало латентное время ( $19,5 \pm 0,81$  и  $19,7 \pm 1,36$  сек., соответственно) облизывания задней лапы на установке «горячая пластина», не уступая по активности препарату сравнения буторфанолу (1 мг/кг) ( $19,7 \pm 1,20$  сек.), что подтверждает наличие у них обезболивающих свойств, а значит, обоснованным является поиск соединений с анальгетической активностью среди производных диазепинобензимидазола.

Многие исследования подтверждают наличие у анксиолитиков свойств, модулирующих активности ферментативных систем, субстратами которых являются нейропептиды, в частности, дипептидилпептидазы-IV (ДПП-4), которая расщепляет биологически активные пептидов, в том числе участвующих в механизмах тревоги и депрессии. [Krupina N.A., 2011] В связи с этим в ходе исследований провели оценку влияния производных диазепино[1,2а]бензимидазола на ДПП-4. В результате изучения *in vitro* было установлено наличие ДПП-4 ингибиторной активности (от 59 до 83%) у ряда представителей данного класса (ДАБ-4, ДАБ-13, ДАБ-15, ДАБ-23). Таким образом, актуальным остается поиск ингибиторов ДПП-4 среди производных диазепинобензимидазола.

В результате скрининговых исследований ряда новых соединений, было выявлено, что новый класс производных диазепино[1,2а]бензимидазола, полученный путем комбинации двух привилегированных подструктур, является перспективным с точки зрения разнообразия фармакологических активностей и низкого риска развития нежелательных эффектов. [Horton D.A., 2003]

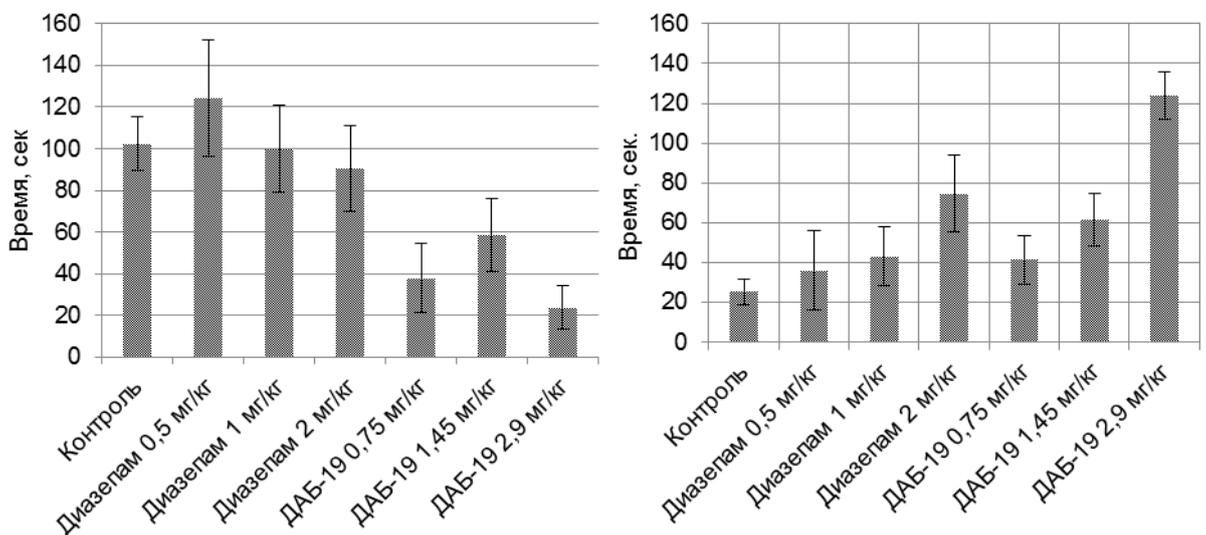
**В пятой главе** описаны результаты расширенного изучения соединения ДАБ-19, при введении которого выявлена наибольшая анксиолитическая активность в тесте ПКЛ, снижается летальность животных при коразоловой интоксикации, отсутствует прогипногенный эффект у животных в тесте гексеналового сна, а также нет угнетающего влияния на двигательную активность животных (таблица 1).

**Таблица 1 – Основные эффекты соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) при однократном внутрибрюшинном введении**

| № | Вид активности                               | Эффект        |
|---|--|---------------|
| 1 | Анксиолитическая (ПКЛ)                       | Высокая       |
| 2 | Локомоторная (актометр)                      | Высокая       |
| 3 | Противосудорожная (коразоловая интоксикация) | ↓ Летальности |
| 4 | Прогипногенная (гексеналовый сон)            | Отсутствует   |
| 5 | Антидепрессантная (Porsolt)                  | Отсутствует   |
| 6 | Анальгетическая (горячая пластина)           | Отсутствует   |
| 7 | ДПП-4 ингибирующая                           | Отсутствует   |

Установлено, что вещество ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг (эквиволяльной 2 мг/кг препарата сравнения диазепама) обладает анксиолитической активностью – увеличивает время нахождения животных в открытом рукаве в установке ПКЛ на 66% по сравнению с результатами группы, которой вводили диазепам. Для исследуемого соединения был рассчитан показатель ED50, который составил 1,38 мг/кг, в то время как у диазепама ED50 оказался выше – 1,67 мг/кг.

Помимо этого при однократном внутрибрюшинном введении субстанции ДАБ-19 у животных уменьшалось проявление чувства страха, на что указывало снижение латентного времени выхода в светлый рукав в 1,5 раза, относительно группы препарата сравнения, а также возрастало количество выходов в светлый рукав у опытной группы животных на 57% (рисунок 2).



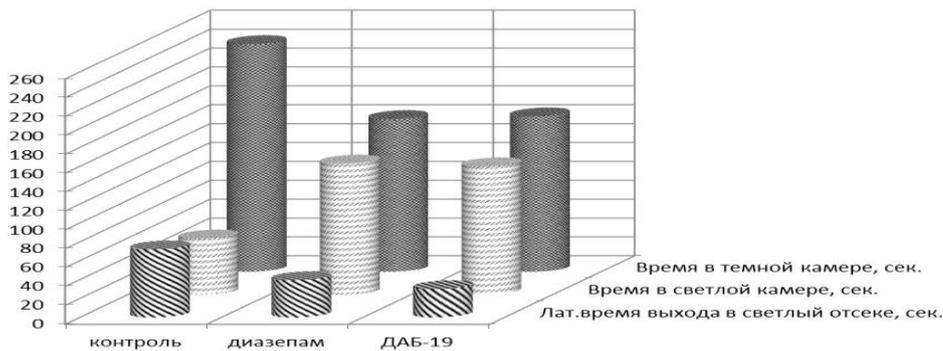
а). общее время нахождения в открытом рукаве

б). латентное время выхода в светлый рукав

**Рисунок 2. Анализ действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквиволяльных дозах при однократном внутрибрюшинном введении на поведение животных в условиях методики «приподнятый крестообразный лабиринт»**

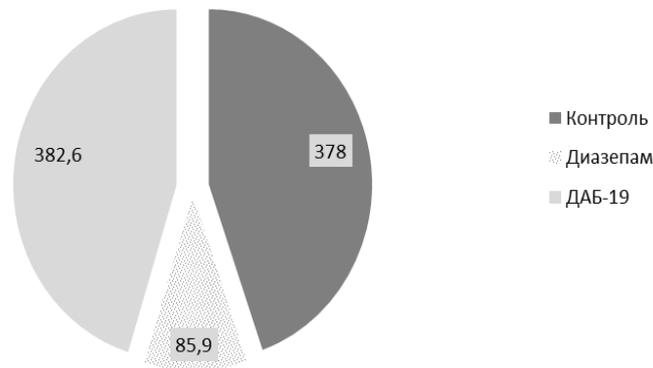
Для подтверждения наличия анксиолитической активности использовали установку «темная/светлая камера». В результате исследования установлено достоверное увеличение общего времени нахождения в светлом отсеке ( $135,7 \pm 14,87$  сек.) животных, которым однократно внутрибрюшинно вводили соединение ДАБ-19 (2,9 мг/кг) в эквимолярной препарату сравнения дозе, относительно контрольной группы ( $59,2 \pm 8,79$  сек.), причем показатели соответствовали результатам группы диазепама (2 мг/кг) ( $138,5 \pm 21,84$  сек.).

При введении препарата сравнения животным, сокращалось латентное время выхода в светлый отсек ( $39,3 \pm 5,52$  сек.), а введение соединения ДАБ-19 приводило к еще большему снижению данного показателя ( $29,8 \pm 6,84$  сек.), в то время, как в группе контроля животные выходили из темного отсека только в течение  $72,9 \pm 9,44$  сек. У животных опытной группы, которой вводили соединение ДАБ-19, и группы препарата сравнения относительно животных, получавших физ. раствор, увеличивались также и другие показатели: число переходов между отсеками, количество выглядываний и вертикальных стоек; по этим же показателям субстанция ДАБ-19 превосходила эффективность диазепама, но отличия не были достоверны (рисунок 3). Данное исследование подтверждает наличие анксиолитической активности у изучаемого соединения ДАБ-19.



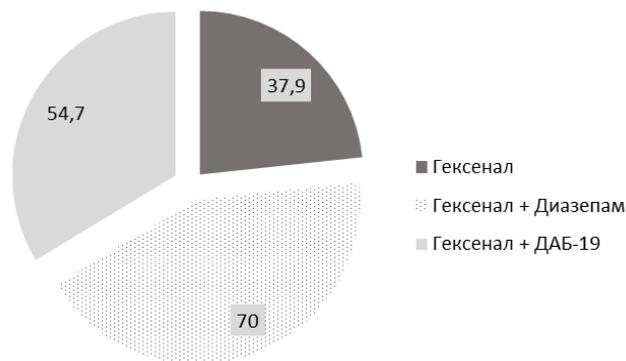
**Рисунок 3. Анализ действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутрибрюшинном введении на поведение животных в условиях методики «темная/светлая камера»**

Производные бензодиазепинов вызывают седацию, что может проявляться снижением двигательной активности [Бобров А. Е., 2012, Longo L., 2000, Pinheiro L. С., 2016]. Изучение в установке «актометр» соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) при однократном внутрибрюшинном введении животным выявило отсутствие влияния на локомоторную активность, в отличие от вводимого препарата сравнения диазепама (2 мг/кг), который значительно снижал количество переходов животных (рисунок 4). Следовательно, соединение ДАБ-19 лишено такого побочного эффекта, как влияние на двигательную активность, что обосновывает возможность применения данного вещества при работе, требующей концентрации внимания и точности движений.



**Рисунок 4. Анализ действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутривнутрибрюшинном введении на количество переходов в установке «Актометр»**

Наличие прогипногенного эффекта оценивали на модели гексеналового сна. Установлено, что при однократном внутривнутрибрюшинном введении соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) животным недостоверно сокращалось латентное время засыпания ( $2,5 \pm 0,22$  мин.), и статистически незначимо увеличивалась продолжительность гексеналового сна ( $54,7 \pm 3,34$  мин.), относительно контрольной группы ( $3,7 \pm 0,33$  мин. /  $37,9 \pm 8,60$  мин.). При введении препарата сравнения диазепама (2 мг/кг) достоверно сокращалось у животных латентное время засыпания ( $1,8 \pm 0,22$  мин.), и увеличивалась продолжительность гексеналового сна ( $70,0 \pm 3,83$  мин.) (рисунок 5). Таким образом, соединение ДАБ-19 не обладает снотворным действием, свойственным производным диазепама, что доказывает перспективность изучения данного вещества.

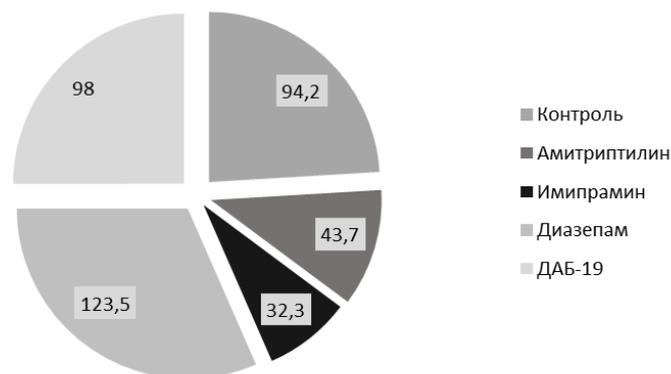


**Рисунок 5. Анализ действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутривнутрибрюшинном введении на продолжительность гексеналового сна.**

Для определения противосудорожной активности использовали модель коразоловых судорог. В результате введения животным соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) латентное время возникновения судорог уменьшалось ( $140,2 \pm 7,85$  сек.) относительно препаратов сравнения диазепама (2 мг/кг) и вальпроата натрия (90

мг/кг) ( $417,5 \pm 29,3$  и  $847,0 \pm 81,4$  сек., соответственно). Однако, показатель летальности в группе животных, которым вводили исследуемое производное диазепаино[1,2a]бензимидазола (16,7%), не уступал показателям группы вальпроата натрия (40%). Таким образом, установлено, что соединение ДАБ-19 обладает противосудорожной активностью при внутрибрюшинном введении.

В тесте принудительного плавания по Porsolt введение животным субстанции ДАБ-19 (2,9 мг/кг) не приводило к изменению времени иммобильности ( $98,0 \pm 10,42$  сек.), в отличие от группы, получавшей диазепам (2 мг/кг), в которой время иммобильности значительно увеличивалось ( $123,5 \pm 16,85$  сек.). В группах препаратов сравнения амитриптилина (15 мг/кг) и имипрамина (10 мг/кг) время иммобильности животных значительно сокращалось ( $43,7 \pm 9,03$  и  $32,3 \pm 3,40$  сек., соответственно), подтверждая антидепрессантный эффект препаратов. Таким образом, можно предположить, что у соединения ДАБ-19 отсутствует антидепрессантное действие (рисунок 6).



**Рисунок 6. Анализ антидепрессантного действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутрибрюшинном введении в тесте принудительного плавания по Porsolt.**

Изучение анальгетической активности субстанции ДАБ-19 было проведено на двух моделях – на установке «горячая пластина» и «Tail flick». Так соединение ДАБ-19 (1,45 мг/кг) увеличивало показатель обезболивающей активности при помещении животных на горячую пластину, что проявлялось удлинением латентного времени облизывания задней лапки испытуемых ( $19,7 \pm 3,18$  сек.), по эффективности не уступая препарату сравнения буторфанолу в эквимолярной дозе (1 мг/кг) ( $19,7 \pm 1,20$  сек.) и даже превосходя диазепам (1 мг/кг) ( $9,3 \pm 1,44$  сек.). При оценке болевой чувствительности на установке «Tail flick» наличие анальгетической активности у вещества ДАБ-19 не установлено. Таким образом, у изучаемого производного диазепинобензимидазола, вероятно, проявляются анальгетические эффекты на спинальном уровне, но подкорковые структуры мозга не вовлекаются в процесс обезболивания.

**В шестой главе** на основании широкого спектра активностей исследуемого соединения ДАБ-19 представлено описание дополнительного фармакологического анализа. Исходя из химического строения производного диазепи-

но[1,2a]бензимидазола, было решено изучить влияние на него блокатора бензодиазепиновых рецепторов флумазенила. В результате экспериментальных исследований было установлено антагонистическое влияние флумазенила на введение животным соединения ДАБ-19. Так исследуемое вещество, аналогично препарату сравнения диазепаму, при изучении анксиолитических свойств на установке ПКЛ, у животных снижало тревожность, что проявлялось сокращением времени выхода в открытый рукав и увеличением времени нахождения в нем. Введение животным препарата флумазенила приводило к блокированию анксиолитического эффекта, что проявлялось увеличением латентного времени выхода в открытый рукав и сокращением времени нахождения в нем. Таким образом, можно предположить, что действие исследуемого вещества ДАБ-19 проявляется за счет средства к бензодиазепиновому рецептору.

Влияния субстанции ДАБ-19 (2 мг/кг) при однократном введении животным на судороги, вызванные пикротоксином (2,5 мг/кг) установлено не было. У животных, которым вводили исследуемое вещество, быстрее развивались судорожные приступы, и увеличивалось их количество относительно группы контрольных животных. Можно предположить, что исследуемое соединение не действует на медиаторные механизмы системы ГАМК.

При исследовании влияния соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг на проявление стереотипии, вызванной L-ДОФА (100 мг/кг), эффекта потенцирования не выявлено. На основании полученных данных можно сделать вывод, что соединение ДАБ-19 не обладает MAO-ингибирующим действием, основанном на потенцировании препарата L-ДОФА.

Соединение ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг не достоверно влияло на выраженность апоморфинового ответа у животных. Но, у животных, которым вводили соединение ДАБ-19, незначительно проявлялось стереотипное поведение, по баллам превышающее стереотипию животных контрольной группы. Таким образом, в результате эксперимента установлено, что для соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг свойственно незначительное увеличение действия апоморфина, что может свидетельствовать о его незначительном влиянии на дофаминовые рецепторы.

При изучении влияния соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) выявлено незначительное снижение выраженности каталептического эффекта галоперидола. В целом, введение соединения ДАБ-19 не приводило к существенным изменениям эффекта галоперидола.

**Седьмая глава** является заключительным этапом исследования, в котором проводилось изучение побочных эффектов. При введении субстанции ДАБ-19 установлены незначительные нарушения координации животных на установке ротород, которые также отмечались у животных группы препарата сравнения. Но при изучении мышечного тонуса на проволоке и сетке у животных, которым вводили соединение ДАБ-19, отклонений не выявлено, в отличие от показателей группы диазепамы, где установлен миорелаксирующий эффект. Таким образом, можно утверждать об отсутствии влияния на мышечный тонус изучаемого вещества.

По результатам изучения острой токсичности показатель LD50 соединения ДАБ-19 (27,4 мг/кг) оказался незначительно ниже показателя LD50 препарата сравнения диазепама (37 мг/кг). Терапевтический индекс соединения ДАБ-19 незначительно отличался от рассчитанного показателя диазепама – 19,86 и 22,16, соответственно.

**Восьмая глава** содержит обобщение полученных результатов исследования, их интерпритация с учетом литературных данных. Так, подводя итоги проведенной работы, следует отметить, что в ходе скрининговых исследований производных диазепино[1,2a]бензимидазола были выявлены соединения, обладающие анксиолитической (ДАБ-18, ДАБ-19, ДАБ-23), противосудорожной (ДАБ-19, ДАБ-21), анальгетической (ДАБ-21, ДАБ-31), антидепрессантной (ДАБ-8, ДАБ-19, ДАБ-21, ДАБ-31), ДПП-4 ингибирующей активностью (ДАБ-4, ДАБ-13, ДАБ-15, ДАБ-23) и представляющие интерес для дальнейшего изучения.

На основании фармакологического анализа соединения ДАБ-19 выявлено снижение транквилизирующего действия изучаемого вещества под влиянием флумазенила, что свидетельствует о связи ДАБ-19 с бензодиазепиновыми рецепторами.

На основании полученных нами новых данных о фармакологических свойствах соединений ДАБ-8, ДАБ-18, ДАБ-19, ДАБ-20 целесообразно проведение дальнейших расширенных доклинических исследований.

**Заключение** содержит обобщенную информацию по проведенной исследовательской работе. Производные диазепинобензимидазола являются новым и малоизученным классом соединений, в связи с этим, методом *in silico* для 23 химических структур представителей данного класса с помощью системы PASS было спрогнозировано наличие широкого спектра фармакологических активностей. Так изучаемые соединения согласно прогнозу, должны проявлять нейрорепрессантные и иммуностропные свойства, а также могут быть эффективны при лечении заболеваний сердечно сосудистой системы.

Учитывая наличие диазепинового фрагмента в строении нового класса химических соединений, исследования проводили на наличие нейрорепрессантных эффектов. Все изученные соединения, синтезированные в лаборатории органического синтеза НИИ ФОХ ЮФУ (Ростов-на-Дону), проявили различный уровень активности. Анксиолитические свойства, выраженные увеличением времени нахождения в открытом рукаве в тесте приподнятого крестообразного лабиринта, выявлены у соединений ДАБ-18, ДАБ-19, ДАБ-20 и ДАБ-23. Наличие антидепрессантного эффекта в тесте принудительного плавания по Porsolt, определяемого снижением времени иммобильности животных, отмечалось у субстанций ДАБ-8, ДАБ-21 и ДАБ-31. Противосудорожное действие установлено у соединений ДАБ-19 и ДАБ-23, которые снижали летальность животных при коразоловой интоксикации. На установке «горячая пластина» вещества ДАБ-21 и ДАБ-31 при внутрибрюшинном введении снижали болевую чувствительность, увеличивая латентное время облизывания задней лапки животными, что свидетельствует о наличии анальгетической активности. Учитывая возможность влияния психотропных препаратов на ферментные системы, при изучении ДПП-4 ингибиторных

свойств было установлено, что соединения ДАБ-13, ДАБ-15, ДАБ-24 при спектрофотометрическом исследовании *in vitro* способны подавлять дипептидилпептидазу типа 4 на 71-82%. В связи с различным уровнем анксиолитической и ДПП-4 ингибиторной активностей для производных 11-R-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола и 11-ацилметил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола определены значимые заместители, определяющие эффективность. У большинства изучаемых соединений установлен низкий риск развития нежелательных реакций. Только соединения ДАБ-18 и ДАБ-24 при однократном введении снижают двигательную активность животных в установке «актометр», остальных производные диазепинобензимидазола таким седативным действием не обладают. Гипногенный эффект отмечен только у вещества ДАБ-20, которое пролонгировало гексеналовый сон.

При расширенном изучении фармакологических свойств соединения ДАБ-19, проявившего наибольшую анксиолитическую активность в тесте ПКЛ, которая превышает по эффективности препарат сравнения диазепам, транквилизирующий эффект был также подтвержден в установке «темная/светлая камера», в которой под действием исследуемого вещества животные длительное время находились в светлом отсеке, не уступая по показателям препарату сравнения. На модели коразоловых судорог при введении животным субстанции ДАБ-19 повышалась выживаемость в опытной группе, превосходящая препарат сравнения вальпроат натрия. Наличие анальгетической активности, не уступающей буторфанолу, у исследуемого вещества выявлено на установке «горячая пластина», однако, в тесте отдергивания хвоста обезболивающего эффекта не наблюдалось. Соединение ДАБ-19 при внутрибрюшинном введении не вызывает развития побочных эффектов снижения двигательной активности в актометре, пролонгации действия гексенала, не влияет на мышечный тонус животных при исследованиях на сетке и проволоке. У субстанции также не установлено антидепрессантное действие в тесте принудительного плавания по Porsolt, так как результаты не отличаются от контрольных значений.

Установлено, что транквилизирующее действие соединения ДАБ-19 в тесте ПКЛ блокируется введением животным флумазенила, что позволяет предположить у него бензодиазепиновый механизм развития анксиолитического эффекта. Анальгетический эффект, вероятно, имеет спинальную природу, но подкорковые структуры мозга в обезболивание не вовлекаются. Отсутствие ГАМКергического действия можно обосновать неэффективностью соединения ДАБ-19 на пикротоксической модели судорог. При введении субстанции ДАБ-19 не происходит потенцирования эффектов L-ДОФА, что указывает на отсутствие MAO-ингибирующих свойств. Исследуемое вещество незначительно увеличивает стереотипию, вызванную введением апоморфина, но снижает каталепсию, обусловленную введением галоперидола, в связи с этим, возможно, влияние соединения ДАБ-19 на дофаминовые рецепторы.

Исследования позволили установить для вещества ДАБ-19 следующие показатели: ED<sub>50</sub> = 1,37 мг/кг, LD<sub>50</sub> = 27,4 мг/кг, TI = 19,86, что предполагает целесообразность и перспективность его дальнейшего изучения.

## ВЫВОДЫ

1. Производные diazepino[1,2a]benzimidazole - новый scaффолд, состоящий из двух привилегированных структур diaзепина и бензимидазола, который проявляет выраженные нейропсихотропные эффекты.
2. Новые производные diaзепинобензимидазола в разной степени оказывают анксиолитический эффект. Соединения ДАБ-18 (2,9 мг/кг), ДАБ-19 (2,9 мг/кг), ДАБ-23 (2,6 мг/кг) превосходят по эффективности препарат сравнения diaзепам (2 мг/кг) в тесте приподнятого крестообразного лабиринта.
3. В тесте принудительного плавания по Porsolt соединение ДАБ-8 (2,8 мг/кг) по антидепрессантной активности не отличается от препарата сравнения amitриптилина.
4. Субстанции ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и ДАБ-23 (2,6 мг/кг) снижают летальность животных при коразоловой интоксикации, превосходя результаты препарата сравнения вальпроата натрия в 2,4 и 1,2 раза, соответственно.
5. Соединения ДАБ-21 (2,5 мг/кг) и ДАБ-31 (3,3 мг/кг) в тесте «горячая пластина» при однократном внутрибрюшинном введении оказывают анальгетический эффект, равный препарату сравнения буторфанолу.
6. У производных diaзепино[1,2a]benzimidazole не выявлены существенные влияния на двигательную активность животных в актометре и гипногенный эффект в тесте с гексеналом.
7. ДПП-4 ингибиторная активность не коррелирует с анксиолитическим влиянием изучаемых производных diaзепино[1,2a]benzimidazole.
8. Соединение ДАБ-19 (2,9 мг/кг) по анксиолитической активности в тесте ПКЛ превосходит препарат сравнения diaзепам (2 мг/кг) в 1,7 раз. Транквилизирующий эффект подтвержден исследованием в установке «темная/светлая камера». При коразоловой интоксикации введение субстанции ДАБ-19 (2,9 мг/кг) приводило к снижению летальности, превосходя по эффективности вальпроат натрия (90 мг/кг) в 2,2 раза. Антидепрессантным эффектом вещество ДАБ-19 не обладает.
9. У вещества ДАБ-19 не обнаружены такие побочные эффекты, как миорелаксирующий и гипногенный. У животных не выявлено снижения двигательной активности под действием изучаемого соединения. При однократном внутрибрюшинном введении  $ED_{50} = 1,37$  мг/кг,  $LD_{50} = 27,4$  мг/кг,  $TI = 19,86$ .
10. Анксиолитический эффект соединения ДАБ-19 (2 мг/кг) блокируется антагонистом бензодиазепиновых рецепторов флумазенилом (1 мг/кг).
11. Анальгетическая активность соединения ДАБ-19, выявленная на установке «горячая пластина» (1 мг/кг), равна буторфанолу (1 мг/кг).

## НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Проведенное комплексное исследование нейропсихотропных свойств производных diaзепино[1,2a]benzimidazole позволяет рекомендовать данный класс в качестве перспективного пути целенаправленного синтеза новых веществ с заданной нейропсихотропной активностью.

2. Полученные результаты исследования свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки на основе производных диазеино[1,2а]бензимидазола веществ с ДПП-4 ингибирующей активностью.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

### Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Морковник, А.С. Прототропное равновесие в 1(11)Н-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазеино[1,2-а]бензимидазоле, синтез и фармакологические свойства его N-замещенных производных / А.С. Морковник, А.А. Спасов, Т.А. Кузьменко, А.Ф. Кучерявенко, Л.Н. Диваева, Ю.В. Кошиенко, В.А. Анисимова, Л.Г. Кузьмина, Н.В. Рогова, В.А. Кузнецова, Н.И. Чепляева, О.А. Соловьева, **А.С. Таран**, Е.С. Воробьев, Д.А. Алешин, В.С. Сиротенко, К.А. Гайдукова, М.В. Богославцева // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2015. - № 11. - С. 2622.
2. Стурова, Е.А. Паттерн селективности дипептидилпептидазы-4 / Е.А. Стурова, Н.И. Чепляева, **А.С. Таран**, П.М. Васильев // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2014. - № 5. – С.131-132.

### Патенты на изобретение

1. ПАТЕНТ РФ RU 2629022. 11-(4-трет-Бутилбензил)- и фенацилзамещенные 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазеино[1,2а]бензимидазола, обладающие анксиолитической активностью. / Л.Н. Диваева, А.А. Спасов, В.И. Петров, Т.А. Кузьменко, А.С. Морковник, Д.С. Яковлев, Д.В. Мальцев, **А.С. Таран**, В.А. Анисимова // опубл. 24.08.2017. Бюл. Изобретений. – 2017. - № 24. - 10с.
2. Решение о выдаче патента № 2016145524/04(073157). Гидрогалогенид 1-(3,4-диметоксифенил)-2-(7,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазеино[1,2-а]бензимидазол-11-ил)этанона, обладающий обезболивающей и анксиолитической активностью / Л.Н. Диваева, А.А. Спасов, Д.В. Мальцев, Т.А. Кузьменко, А.С. Морковник, Д.С. Яковлев, **А.С. Таран**, В.И. Петров, М.В. Богославцева // 21.11.2016г.

### Статьи в журналах и сборниках конференций

1. Таран, А.С. Методы оценки дипептидилпептидаза-4 ингибирующей активности *in vitro* / **А.С. Таран**, Н.И. Чепляева // Волгоградский научно-медицинский журнал – 2014. - №1 (41). – С.26-29.
2. Чепляева, Н.И. Поиск корректоров метаболических нарушений при сахарном диабете 2-го типа среди 5-замещенных бензимидазолов, содержащих во втором положении алкиламиногруппу / Н.И. Чепляева, В.А. Кузнецова, А.А. Спасов, В.А. Косолапов, О.Н. Жуковская, В.А. Анисимова, О.А. Соловьева, Д.В. Сороцкий, **А.С. Таран**, Е.С. Воробьев, М.В. Леглер // Волгоградский научно-медицинский журнал - 2014. - № 3 (43). - С. 21-24.
3. Таран, А.С. Изучение анксиолитической активности в ряду новых производных диазеинобензимидазола на установке «приподнятый крестообразный

- лабиринт» / **А.С. Таран**, Д.В. Мальцев, Д.С. Яковлев, Т.В. Караваева, Ю.О. Ткаченко, Л.Н. Диваева, А.С. Морковник, Т.А. Кузьменко // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2017. – № 1. – С. 24-26
4. Таран, А.С. Поиск новых вещества с ДПП-4 ингибирующей активностью среди конденсированных азолов / **А.С. Таран**, Н.И. Чепляева, В.А. Анисимова, А.А. Спасов, О.Н. Жуковская // Академическая наука - проблемы и достижения н.-и. ц. «Академический». - 2014.- С. 54-56.
  5. Васильев, П.М. Поиск методом сходства к эталонам ингибиторов дипептидилпептидазы-4 в ряду конденсированных азолов / П.М. Васильев, А.А. Спасов, Н.И. Чепляева, О.В. Загребельная, **А.С. Таран**, В.А. Анисимова // Человек и лекарство: сборник материалов (тезисы докладов) XXI Российского национального конгресса, 7-11 апреля 2014 г. - Москва, 2014. – С.
  6. Чепляева Н.И. Влияние конденсированных производных бензимидазола на активность дипептидилпептидазы типа 4 / Н. И. Чепляева, **А. С. Таран**, О. В. Загребельная // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 72-открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ с международным участием 16-19 апреля 2014г. - Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2014. – С. 249.
  7. Францева, В.В. Виртуальный скрининг ингибиторов дипептидилпептидазы 4 методом докинга / В.В. Францева, **А.С. Таран**, Л.Р. Яналиева // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 73-открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ с международным участием 22-25 апреля 2015г. - Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2015. – С. 339-340.
  8. Таран, А.С. Анализ производных бензимидазола на ДПП-4 ингибирующую активность / **А.С. Таран** // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 73-открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ с международным участием 22-25 апреля 2015г. - Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2015. – С. 337-338.
  9. Караваева, Т.В. Изучение анксиолитических свойств трициклических производных бензимидазола / Т.В. Караваева, А.О. Капитонова, Д.С. Бочкарева, **А.С. Таран** // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ с международным участием 20 – 23 апреля 2017г. - Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2017. – С. 264
  10. Кузнецова В.А. Фармакологические свойства производных diaзепинобензимидазола / В.А. Кузнецова, Н.И. Чепляева, О.А. Соловьева, **А.С. Таран**, Е.С. Воробьев, Д.А. Алешин, В.С. Сиротенко, К.А. Гайдукова, М.В. Богославцева // Достижения современной фармакологической науки: материалы Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова, Школы фармакологов и клинических фармакологов, 22-23 октября 2015г. – Рязань: Изд-во РязГМУ, 2015. – С. 188.

11. Таран, А.С. Изучение анксиолитических свойств трициклических производных бензимидазола / **А.С. Таран**, А.А. Спасов, Д.С. Яковлев [и др.] // Актуальные проблемы фармакотерапии и фармакологии: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию Ш.М. Омарова. 28 сентября 2016г. – Махачкала: Изд-во ДГМУ, 2016. – С. 109-110.
12. Мишень-ориентированный поиск антидиабетических средств [Текст]: монография / Д.А. Алешин, В.А. Анисимова, Д.А. Бабков [и др.]; под ред. акад. РАН А.А. Спасова, акад. РАН В.И. Петрова. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2017. – 232 с.

ТАРАН АЛЁНА СЕРГЕЕВНА

**НЕЙРОПСИХОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДНЫХ  
ДИАЗЕПИНО[1,2А]БЕНЗИМИДАЗОЛА**  
(экспериментальное исследование)

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Подписано в печать \_\_. \_\_. 201\_\_ г.  
Формат 60x84/16. Печать офсетная. Усл.-печ. л. \_\_.  
Усл. изд.л. \_\_ Тираж 100 экз. Заказ \_\_  
Отпечатано в типографии