

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

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; Зефилов 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 токсико-

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]benzimidazole¹ - 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.

¹ *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 эффектов² новых производных диазепаино[1,2а]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-НСl*, *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.

² 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. нейрпсихотропные эффекты – психотропная, лечение расстройств настроения, лечение фобий, антидепрессантная, лечение острых неврологических расстройств, анксиолитическая, ноотропная, антиневротическая, 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 нейрпсихотропных 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 (-CH₂-) 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 свойства³ 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.

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

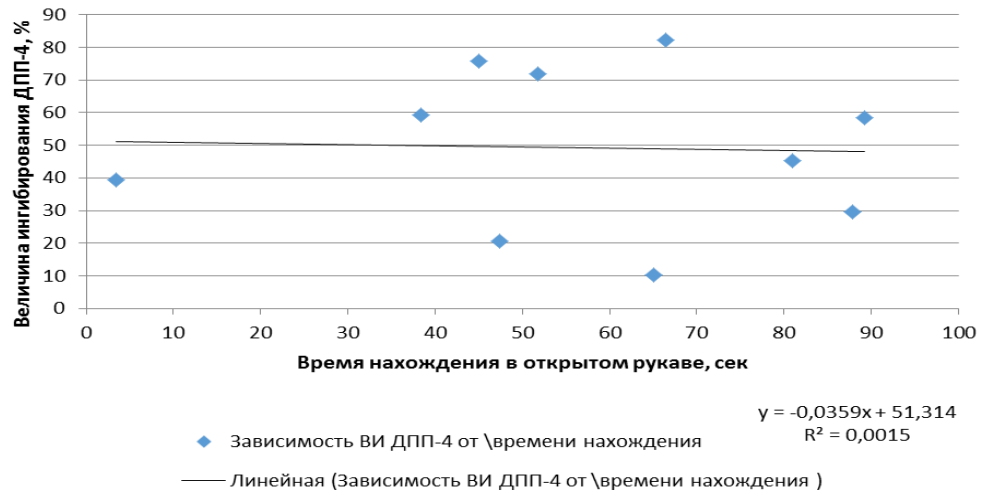


Рисунок 1. Зависимость величины ингибирования ДПП-4 от анксиолитического эффекта (времени нахождения в открытом рукаве ПКЛ).

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[1,2a]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[1,2a]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[1,2a]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[1,2a]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]

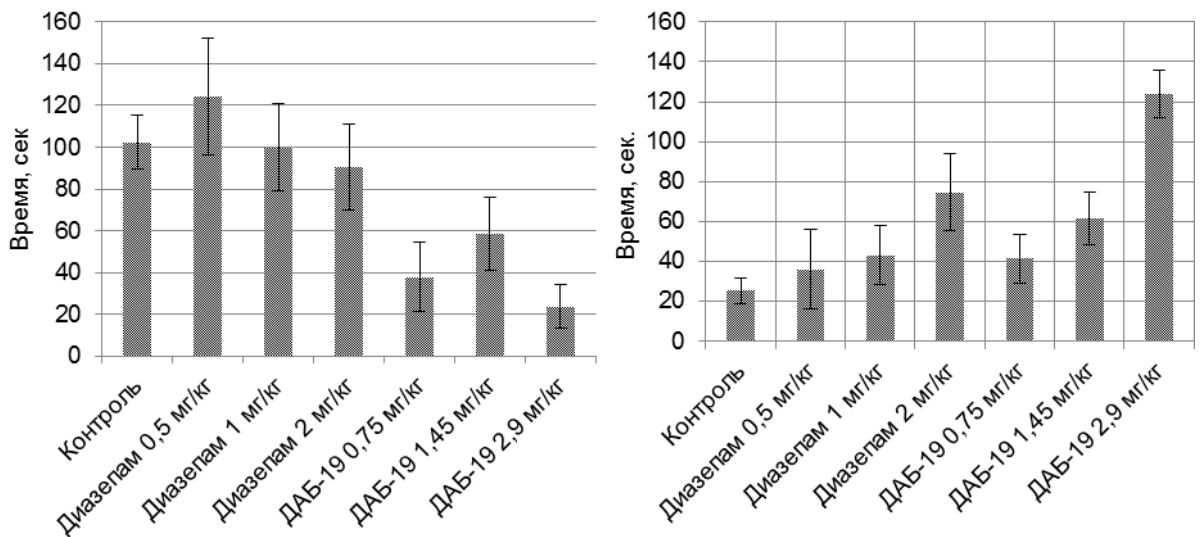
В пятой главе описаны результаты расширенного изучения соединения ДАБ-19, при введении которого выявлена наибольшая анксиолитическая активность в тесте ПКЛ, снижается летальность животных при коразоловой интоксикации, отсутствует прогипногенный эффект у животных в тесте гексеналового сна, а также нет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

Таблица 1 – Основные эффекты соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) при однократном внутривнутрибрюшинном 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 внутривнутрибрюшинном 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 внутривнутрибрюшинном 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.

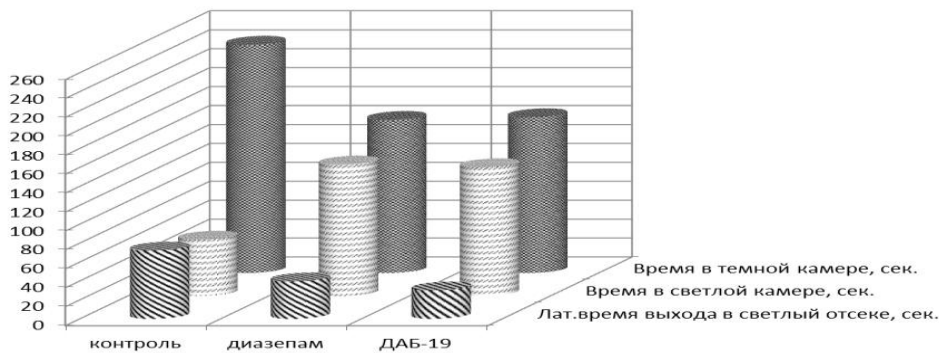


Рисунок 3. Анализ действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутрибрюшинном введении на поведение животных в условиях методики «темная/светлая камера»

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.

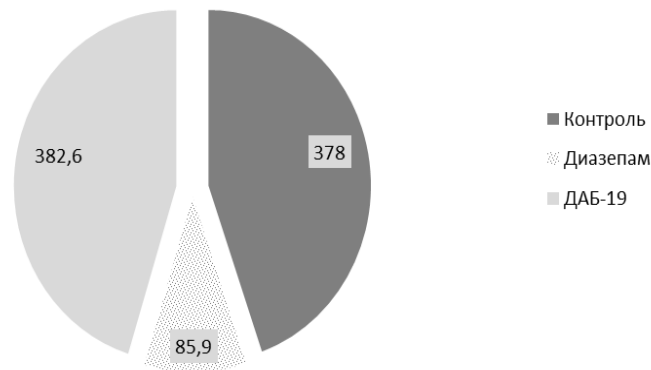


Рисунок 4. Анализ действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутрибрюшинном введении на количество переходов в установке «Актометр»

Наличие прогипногенного эффекта оценивали на модели гексеналового сна. Установлено, что при однократном внутрибрюшинном 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.

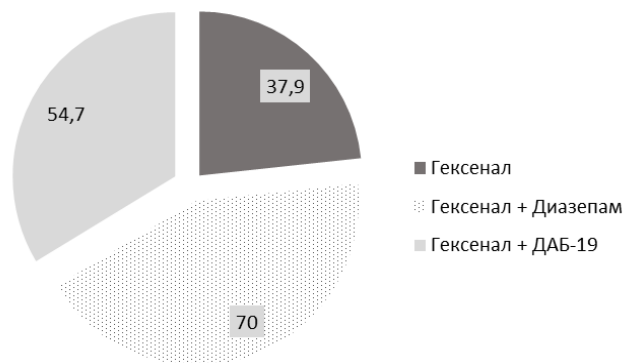


Рисунок 5. Анализ действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутрибрюшинном введении на продолжительность гексеналового сна.

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 amitriptилина (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).

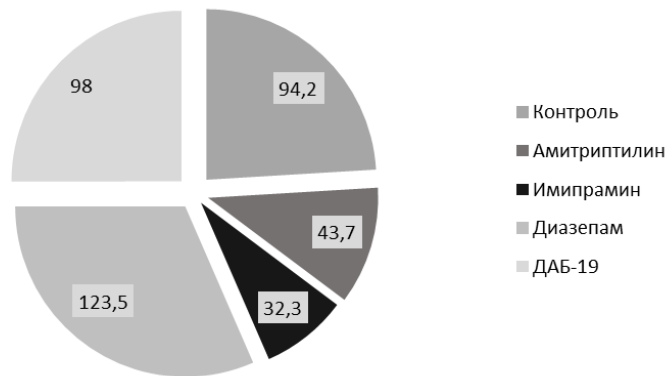


Рисунок 6. Анализ антидепрессантного действия соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг) и диазепама (2 мг/кг) в эквимолярных дозах при однократном внутрибрюшинном введении в тесте принудительного плавания по Porsolt.

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 диазепаинобензимидазола, 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 диазепаино-

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: ED₅₀ = 1,37 мг/кг, LD₅₀ = 27,4 мг/кг, TI = 19,86, что предполагает целесообразность и перспективность его дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Производные diaзепино[1,2a]бензимидазола - новый скаффолд, состоящий из двух привилегированных структур diaзепина и бензимидазола, который проявляет выраженные нейрорепсихотропные 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]бензимидазола 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]бензимидазола.
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 нейрорепсихотропных свойств производных diaзепино[1,2a]бензимидазола позволяет рекомендовать данный класс в качестве перспективного пути целенаправленного синтеза новых веществ с заданной нейрорепсихотропной активностью.

2. Полученные результаты исследования свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки на основе производных диазеино[1,2a]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[1,2a]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 диазепинобензимидазола / 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