

На правах рукописи

МИРОШНИКОВ МИХАИЛ ВЛАДИМИРОВИЧ

**АНКСИОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ДИАЗЕПИНО-[1,2- α]-БЕНЗИМИДАЗОЛА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Волгоград, 2020

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр»

Научный руководитель:

Заслуженный деятель науки РФ,
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Спасов Александр Алексеевич

Официальные оппоненты:

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор, заведующая лабораторией психофармакологии ФГБНУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»

Воронина Татьяна Александровна

Заведующий кафедрой фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова, главный фармаколог Минобороны РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Шабанов Петр Дмитриевич

Ведущее учреждение: «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ) 634028, г. Томск, пр. Ленина,3

Защита диссертации состоится «__» _____ 2020 г. в _____ ч. на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России
Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Тревожные состояния являются наиболее встречающимися психическими расстройствами (Александровский Ю. А., 2014; Faye C., Hen R., Guiard V.P., 2019). По данным ВОЗ их распространенность в развитых странах составляет от 3% до 16% популяции (Nuss, P., 2015). Широко применяемыми анксиолитиками первого поколения с ГАМК-ергическим механизмом действия долгое время являлись препараты бензодиазепинового ряда (Воронина Т. А., Середенин С.Б., 2002; Середенин С.Б., Воронин М.В., 2009) однако, несмотря на высокую эффективность, они обладают существенными нежелательными эффектами - аддиктивное состояние, нарушение двигательной активности, головная боль, сонливость и т.д. (Петров В. И. и др., 2015; Тюренок И. Н., Перфилова В.Н., 2010; Sake F. et al., 2019). Расширение представлений о патогенезе тревожно-депрессивных состояний способствовало появлению новых направлений поиска эффективных и безопасных препаратов (Воронина Т. А., Середенин С.Б., 2002; Шабанов П. Д. и др, 2016; Багметова В. В. И др, 2017; Середенин С.Б., Воронин М.В., 2009; Арушанян Э. Б., 2012; Casseb G. A., Kaster M.P., Rodrigues A.L.S., 2019; Wang Y. et al., 2019; Mark M. D. et al., 2019).

Одним из существующих подходов, позволяющих на стадии планирования работы заложить более высокую вероятность получения целевой биологической активности, является концепция привилегированных структур (Duarte C. D., Barreiro E.J., Fraga C.A.M., 2007; Tripathi A. C., Boutard N., 2011) или сочетание двух привилегированных структур с помощью методов комбинаторной химии (Зефирова О. Н., Зефиров Н.С., 2002; Mazimba O., Molefe T.C., 2015).

Была изучена нейропсихотропная активность синтезированных соединений – производных диазепинобензимидазола, химическая структура которых включает две привилегированные структуры. Производные диазепина (диазепам) обладают выраженным противотревожным эффектом, описанным в большом количестве научной литературы (Faye C., Hen R., Guiard V.P., 2019; Dhole M., Bhalerao S., Kewlani A., 2019, Ait-Daoud N. et al., 2018). Производные бензимидазола (фаботомизол) также обладают выраженными

транквилизирующими свойствами (Kalinina T. S. et al., 2016; Воронина Т. А., Середенин С.Б., 2002).

Актуальным и целесообразным стало изучение фармакологических эффектов новых соединений – анксиолитического, седативного, анальгетического, снотворного, антидепрессивного, противосудорожного. Предполагалось, что объединение двух скаффолдов бензимидазола и диазепина может привести к получению высокоэффективных препаратов с низким риском развития нежелательных эффектов.

Ввиду перечисленного, представлялось актуальным изучение психотропных свойств и аспектов механизма действия новых производных 11-замещенных-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино-[1,2- α]-бензимидазола с целью возможной разработки новых высокоэффективных нейропсихотропных средств.

Тема утверждена на заседании Ученого Совета ВолгГМУ (протокол № 6 от 14.02.2018) и включена в план НИР.

Степень разработанности. На сегодняшний день для производных бензимидазола доказано участие в коррекции значительного количества патологических состояний, так как они обладают широким спектром фармакологических активностей - антиоксидантной (Kosolapov V. A. et al., 2019), актопротекторной (Bobkov Y. G. et al., 1997), антигистаминной (Спасов А. А. и др., 2000; Gandhi J., Godse K., Godse G., 2018), противовоспалительной (Sethi P., Bansal Y., Bansal G., 2018), противовирусной (Liu L. et al., 2018), антибактериальной (Bektas H. et al., 2018) антидиабетической (Babkov D. A. et al., 2019), противоязвенной (Спасов А. А. и др., 1990) и др. Отдельно также можно выделить нейропсихотропные виды активности у производных данного химического класса - анальгетическую (Гречко О. Ю. и др., 2016; Nguema Ongone T. et al., 2019), противосудорожную (Kalitin K. Y. et al., 2018; Turan N. et al., 2019), антидепрессивную (Albott C. S. et al., 2017), анксиолитическую (Воронина Т. А., Середенин С.Б., 2002; Яковлев Д. С. и др., 2010; Султанова К. Т. и др., 2018), противомигренозную (Spasov A. A. et al., 2019).

Производные диазепина также являются соединениями, проявляющими различные фармакологические свойства – анальгетические (Sathishkumar S., Kavitha H.P., 2019), антитромботические (Спасов А. А. и др., 2016), анксиолитические

(Rashid M. A. et al., 2019), снотворные (Manouchehri N., Abbasi-Maleki S., Mousavi Z., 2019), противовирусные (Bacon E. et al., 2019), противоопухолевые (Gour J. et al., 2019), противосудорожные (Shafie A. et al., 2019) и противовоспалительные (Sathishkumar S., Kavitha H.P., 2017).

Настоящая работа является продолжением научного исследования по изучению нейрпсихотропных свойств производных диазепинобензимидазола, проводимого на кафедре фармакологии и биоинформатики ВолГМУ (Мальцевым Д.В., Таран А.С., 2017). Структура производных диазепинобензимидазола была оптимизирована с учетом ранее полученных практических рекомендаций.

Цель исследования. Оценка анксиолитической активности новых производных 2,3,4,5-тетрагидродиазепино-[1,2- α]-бензимидазола и изучение нейрпсихотропных свойств наиболее активного соединения.

Задачи исследования.

1. Провести направленный поиск соединений с анксиолитической активностью среди производных 2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2- α]бензимидазола в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».
2. Выполнить углубленное изучение анксиолитической активности наиболее активного соединения с использованием моделей ситуативной тревожности - «Темная-светлая камера», «Оценка тревожно-фобического состояния животных», «Открытое поле», а также конфликта мотиваций - «Наказуемое взятие воды по Vogel».
3. Изучить степень выраженности и продолжительность анксиолитического действия наиболее активного производного диазепинобензимидазола.
4. Провести оценку спектра нейрпсихотропных свойств соединения лидера: влияние на депрессивноподобное поведение, болевую чувствительность, мышечный тонус и т.п.
5. Изучить механизм действия наиболее активного соединения с использованием методов нейрофармакологического анализа *in vivo* путем определения влияния на эффекты агонистов и антагонистов основных нейромедиаторных систем.
6. Определить острую токсичность и нейротоксические свойства наиболее активного производного

дiazепинобензимидазола посредством теста «S.Irwin», а также оценить его побочные эффекты.

Научная новизна исследования. Впервые были изучены нейрорепродуктивные свойства новых соединений, относящихся к скаффолдам: 11-Алкил- и Бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола, 11-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола, 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола дигидрохлориды, 11-Карбокси(карбэтокси)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола, 11-Фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола - производных diaзепинобензимидазола, при внутрижелудочном пути введения изучаемых веществ. В экспериментальных исследованиях подтверждено наличие у данных соединений анксиолитической, антидепрессивной, противосудорожной, анальгетической активностей.

Выявлено соединение ДАБ-21 по уровню анксиолитической активности превосходящее препараты сравнения diaзепам и афобазол. Получены данные об отсутствии у вещества ДАБ-21 миорелаксирующего эффекта. Соединение обладает умеренным антидепрессивным действием. Было установлено, что токсичность изучаемого соединения ниже, чем препарата сравнения diaзепам. Ввиду вышесказанного изучаемое соединение в отличие от препарата сравнения может рассматриваться как дневной транквилизатор с дополнительным антидепрессивным эффектом.

При рассмотрении химической структуры соединения ДАБ-21, являющегося производным 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола, показавшего выраженный антифобический потенциал было замечено наличие в положении N¹¹ 2-пирролидиноэтильного радикала, возможно именно из-за этого фактора данное соединение проявляет наибольшую анксиолитическую активность, превосходящую показатели препаратов сравнения.

Теоретическая и практическая значимость работы. Выявленные в ходе исследования закономерности между анксиолитической активностью производных 11-замещенных-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино-[1,2-а]-бензимидазола и их структурой, а также физико-химическими свойствами расширили знания о данном классе соединений и могут служить основой для направленного поиска новых соединений с нейрорепродуктивными

свойствами. Получены данные о наличии некоторых нейрорепродуктивных свойств у соединения ДАБ-21, а именно эффекты, связанные с возможностью снижать тревогу, депрессивное и обсессивно-компульсивное состояние, снижать болевые ощущения, изучена острая токсичность, а также получены данные об отсутствии нежелательных реакций, присущих производным диазепамина. Установлено, что изучаемое вещество обладает политаргетным механизмом действия.

Методология и методы исследования. Учитывая поставленные задачи, выбор методических подходов осуществлялся из современных высокоинформативных методов, имеющихся в ФГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также на базе Научного центра инновационных лекарственных средств ВолгГМУ (НЦИЛС ВолгГМУ). Исследование осуществлялось на нелинейных половозрелых самцах мышей и крыс. Основные методы, направленные на изучение анксиолитических, противосудорожных, гипногенных, анальгетических, антидепрессивных свойств производных диазепинобензимидазола осуществлялись согласно методическим рекомендациям по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Воронина Т.А., 2012). Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием теста Вилкоксона, критерия Краскела-Уолиса с постобработкой тестом Данна. Обсчет реализован в программе GraphPad Prism 5.0.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Производные скаффолда 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола - перспективный класс соединений для поиска и изучения новых высокоэффективных транквилизирующих средств.
2. Соединение ДАБ-21 11-[4-трет-бутилбензил]-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола гидробромид проявляет высокую анксиолитическую активность, превосходящую эффект диазепама, имеет оригинальный спектр действия, включающий антидепрессивную, противосудорожную, анальгетическую активности *in vivo*, при этом является малотоксичным и не проявляет бензодиазепиноподобных побочных эффектов таких как седация и мирелаксация, что в совокупности указывает на его потенциально высокую лекарственную

безопасность. Уровень анксиолитической активности и безопасность вещества ДАБ-21 обосновывает перспективность разработки нового оригинального отечественного анксиолитического средства.

3. Флумазенил блокирует анксиолитическую активность соединения ДАБ-21.

Внедрение результатов исследования. Выявленные закономерности между структурной и физико-химической характеристикой изученного ряда производных диазепинобензимидазола с их анксиолитической и нейрорепрессивной 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. Разработанная методология целенаправленного поиска новых нейрорепрессивных соединений применяется в работе лаборатории экспериментальной фармакологии ГБУ ВМНЦ, кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ. Результаты работы внедрены в лекционные курсы на кафедрах фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ; фармакологии и фармации Института НМФО; фармацевтической и токсикологической химии ВолгГМУ.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом и качеством выполненных исследований, проведенных на мышах и крысах-самцах; использованием современных методов и методических подходов, высокотехнологического оборудования в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с нейрорепрессивной активностью, а также критериев статистической обработки данных. Основные результаты диссертационной работы были представлены на научно-практических конференциях: 76, 77 - открытые научно-практические конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2018-2019 гг.), XXIII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области (Волгоград, 2018 г.), XXIV Региональной конференции молодых исследователей

Волгоградской области (Волгоград, 2019 г.), Семинаре Европейской Коллегии Нейропсихофармакологии ESCNP (Санкт-Петербург, 2018 г.), Конференции «Мечниковские чтения-2018» (Санкт-Петербург, 2018 г.). XII Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Молодежь – практическому здравоохранению» (Тверь, 2018 г.), Международной конференции «Психофизиология и психонейроэндокринология» (Ставрополь, 2018 г.), V съезде фармакологов России (Ярославль, 2018 г.), «Фестивале молодежной науки – 2018» - (Красноярск, 2018 г.).

По материалам диссертации опубликовано 23 печатных работы, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведен поиск и анализ зарубежных и отечественных источников литературы. Вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования по изучению фармакологической активности, анксиолитического и нейропсихотропного действия новых производных диазепинобензимидазола: решения поставленных задач, обсуждения результатов, разработке практических рекомендаций. При написании диссертационной работы автором выполнен сбор первичных данных, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и практических рекомендаций, оформление рукописи.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 177 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов работы, 5 глав собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, научно-практические рекомендации, список литературы, содержащий 237 источника, из них 85 отечественных и 152 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 28 рисунками и содержит 46 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе проведен анализ отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертации. Представлены основные группы препаратов для лечения тревожно-фобических расстройств, одобренные для клинического применения. Представлен современный взгляд на проблему патологической тревожности. Рассмотрены основные механизмы и системы, лежащие в основе развития данных расстройств.

Во второй главе диссертации описаны материалы и методы работы. В исследовании было изучено 15 производных 11-замещенных-2,3,4,5 – тетрагидро [1,3] диазепино-[1,2- α]-бензимидазола. Были отобраны новые линейки соединений – ДАБ-30-х и ДАБ-40-х шифров, а также вещества, ранее показавшие активность в отношении иных нейропсихотропных эффектов. Соединения, представленные в работе, ранее не изучались на предмет наличия анксиолитической активности. Так, вещества ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-41 являются новыми производными 11-Алкил- и Бензил2,3,4,5тетрагидродиазепино[1,2 α]бензимидазола. Соединения ДАБ-43 и ДАБ-44 являются производными 11-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2- α]бензимидазола. Вещества ДАБ-21 и ДАБ-34 являются производными 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино-[1,2- α]-бензимидазола. ДАБ-35 - производное 11-Карбокси-2,3,4,5тетрагидродиазепино[1,2 α]бензимидазола. ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-32, ДАБ-33, ДАБ-45 являются производными 11-Фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2- α]бензимидазола.

Изучаемые вещества были синтезированы в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета главным научным сотрудником лаборатории органического синтеза Морковником А.С., с.н.с. Кузьменко Т.А., с.н.с. Диваевой Л. Н., с.н.с. Анисимовой В.А.

Исследования проведены на 636 нелинейных половозрелых белых мышах-самцах массой 22-25 г. и 138 нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180-200 г. Животные содержались в условиях вивария кафедры фармакологии и биоинформатики ВолГМУ 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 директивам 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г по охране животных, используемых в научных целях, а также правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»; Приказ Минздрава России от 01.04.2016 N 199н "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной

практики"). Все эксперименты были одобрены к проведению Региональным независимым этическим комитетом при ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр» (протокол № 191-2014 от 25 февраля 2014 года.).

При проведении экспериментов были использованы следующие вещества: диазепам (ФИС-Фабрика Италиана Синтетици С.п.А. (Италия)), коразол («Sigma», США), имипрамин (драже 25 мг, Нанолек ООО (Россия)), амитриптилин (таблетки 25 мг, Московский эндокринный завод ФГУП (Россия)), буторфанол (раствор для внутривенного и внутримышечного введения 2 мг/мл, Московский эндокринный завод ФГУП (Россия)), флумазенил (ACS, США), пикротоксин («Sigma», США), галоперидол (раствор для внутримышечного введения 5 мг/мл, Москхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко (Россия)), L-ДОФА («Sigma», США), апоморфин («ICN Biomedical», США), афобазол («Отисифарм», Россия).

Изучение анксиолитической активности (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012) проводилось в тестах: «Приподнятый крестообразный лабиринт» (Ugo Basile, Cat. No. 40143 Elevated Plus-Maze, for mice); «Темно-светлая камера» (Ugo Basile, Cat. No. 47442/47443, Light/Dark Box); «Тест конфликтной ситуации по Vogel» (Ugo Basile, Cat. No. 45100 Set-up for Rat, Lickometer - Vogel Test) (Vogel J. R. et al., 1971); тест «Оценка тревожно-фобического состояния животных» (Шабанов П.Д. и др., 2016); «Открытое поле» (Ugo Basile, 47432 Open-field, 44 cm), локомоторная активность изучалась в установках «Актометр» (Ugo Basile, Cat. No. 47420, Multiple Activity Cage); «Вращающийся стержень» (Ugo Basile, Cat. No. 47650, Mouse Rota-Rod); «Проволока» и «Сетка» (Klein S. M. et al., 2012).

Поведенческая активность оценивалась в тестах «Закапывание шариков» (Шабанов П.Д., и др., 2017); «Резидент — интродер» (Шабанов П.Д., и др., 2017); «Принудительное плавание по Porsolt» (Porsolt, R.D., Le Pichon M., Jalfre M.L., 1977) (Open Science, TS0801-M, Forced Swimming Test for mice; Open Science, TS0801-R30S, Forced Swimming Test for rats); «Подвешивание за хвост» (Panlab, LE808, Tail Suspension Test) (Steru L. et al., 1985).

Анальгетическая активность определялась в тестах «Отдергивания хвоста» (Ugo Basil, Cat. No. 37360, Tail-Flick Unit) (D'Amour FE, Smith DL., 1941); «Горячая пластина» (Ugo Basil, Cat. No. 35150, Hot Plate) (Kitchen I., Crowder M., 1985).

Фармакологический анализ включал изучение: взаимодействия антагониста бензодиазепиновых рецепторов флумазенила (внутрибрюшинное введение, 1 мг/кг) с исследуемым соединением; тест с 5-гидрокситриптофаном (внутрибрюшинное введение, 300 мг/кг); оценка ареколинового тремора (внутрибрюшинное введение, 15 мг/кг); влияние вещества на фенаминовую стереотипию (внутрибрюшинное введение, 5 мг/кг); тест с L-ДОФА (внутрибрюшинное введение, 100 мг/кг, 500 мг/кг); оценка действия вещества на никотиновый тремор (внутрибрюшинное введение, 2 мг/кг, 4 мг/кг); влияния на эффекты апоморфина (подкожное введение, 1 мг/кг); тест с галоперидолом (внутрибрюшинное введение, 3 мг/кг); взаимодействие с клофелином (внутрибрюшинное введение, 0,1 мг/кг); влияние на судорожный эффект пикротоксина (внутрибрюшинное введение, 5 мг/кг); тест с резерпином (внутрибрюшинное введение, 2,5 мг/кг) (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012).

Острую токсичность определяли в соответствии методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств (Арзамасцев Е.В., Березовская И.В., Верстакова О.Л., 2012). Исследование токсичности проводили на 54 белых нелинейных мышах-самцах массой 22-30 г. (ООО «Питомник РАМТН», ветеринарное свидетельство 202 № 0128531 от 19.12.2012) при однократном внутрижелудочном введении. Расчет токсикологического показателя - LD_{50} – рассчитывали по методу Личфилда-Вилкоксона (Беленький М.Л., 1963).

Изучение общепармакологических эффектов соединений с использованием многопараметрового нейротоксикологического теста по S.Irwin (Roux S., Sablé E., Porsolt R.D., 2004) в модификации НИИ фармакологии ВолгГМУ (Бугаева Л.И., Веровский В.Е., Иежица И.Н., 2000) проводили на половозрелых мышах-самцах, массой от 18 до 30 г.

Изучение аддикции в тесте «Условная реакция предпочтения места» осуществляли на половозрелых мышах-самцах, массой от 18 до 22 г (Шабанов П.Д. и др., 2017).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программы «GraphPad.Prism.5.0» (США). Проверку выборки на нормальность осуществляли с помощью теста Колмогорова-Смирнова. Сравнение двух зависимых выборок проводили непараметрическим парным тестом Вилкоксона.

Сравнение двух независимых выборок осуществляли с использованием непараметрического парного теста (U-критерий Манна–Уитни). Сравнение трех и более независимых выборок проводили параметрическими (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с посттестом Данна) и непараметрическими (критерий Краскела-Уоллиса с посттестом Данна) методами. Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне $p < 0,05$.

В третьей главе приведены данные по поиску соединений с анксиолитической активностью в ряду 15 новых производных диазепаино – [1,2- α] – бензимидазола (Рисунок 1). У животных, которым вводили соединение ДАБ-21, была показана выраженная анксиолитическая активность, которая превосходила данные диазепама и афобазола. Так, по показателям количества переходов, мыши под действием ДАБ-21 активно выходили в открытые рукава установки, изучали все участки прибора, средняя продолжительность нахождения животного в светлом отсеке была равной 112 секундам, что превышает показатель группы диазепама в 1,2 раза, а группы афобазола в 1,7 раз. Животные совершали большое количество свешиваний. Также, по результатам 4 тестов, направленных на выявление миорелаксирующей активности, было показано, что животные под действием ДАБ-21 не проявляют выраженных миорелаксирующих свойств. Можно сделать вывод о том, что химическая структура, состоящая из 2-пирролидиноэтильного радикала совместно с базовой структурой производных диазепаино[1,2- α]бензимидазола, а именно 11-диалкиламиноэтил - 2 , 3 , 4 , 5 - тетрагидродиазепаино [1,2- α]бензимидазола имеет необходимые физико-химические свойства для создания связи с биологической мишенью и развития выраженного противотревожного эффекта.

У соединений ДАБ-41 и ДАБ-45 зарегистрирована анксиолитическая активность, соответствующая группе препарата сравнения диазепама. В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у мышей, которым вводили данные соединения, было показано увеличение количества переходов относительно групп диазепама и афобазола. Животные, которым вводили соединение ДАБ-41, находились в светлых рукавах установки в среднем 82 секунды, животные которым вводили ДАБ-45, чаще выходили в

светлые рукава установки и находились там в среднем 73 секунды, что соответствует аналогичному показателю группы диазепама.

У групп животных, которым вводили ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-32, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-44 и ДАБ-44 была зарегистрирована низкая анксиолитическая активность. Время нахождения мышей в светлом отсеке под действием данных веществ было сопоставимо с временем контрольной группы (в среднем - 25 секунд).

Таким образом, в результате скринингового исследования 15 соединений производных диазепино[1,2-а]бензимидазола было выбрано соединение ДАБ-21 для дальнейшего углубленного изучения его транквилизирующих свойств.

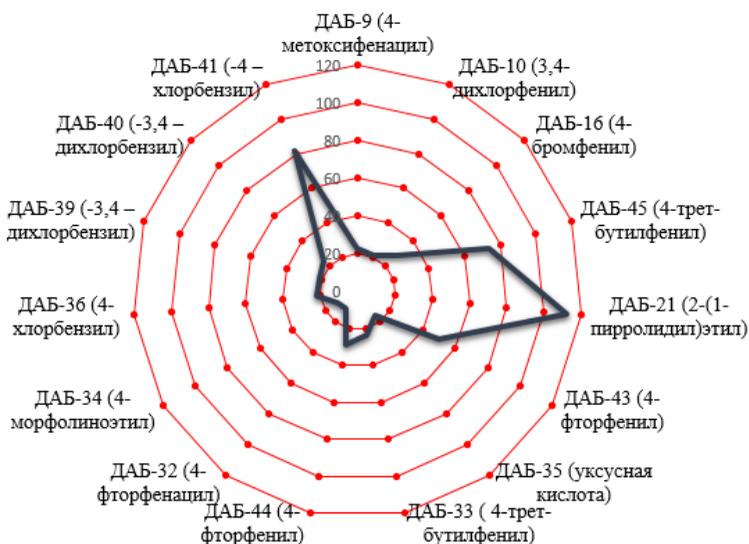


Рисунок 1. Влияние заместителей в N¹¹ положении, изучаемых производных диазепино[1,2α] бензимидазола, на продолжительность нахождения в светлом рукаве исследуемыми животными.

В четвертой главе описаны результаты расширенного изучения соединения ДАБ-21, при введении которого была выявлена наибольшая анксиолитическая активность в тесте ПКЛ. Было показано (Рисунок 2), что соединение ДАБ-21 имеет более широкий диапазон доз, проявляющий анксиолитическую

активность от 0,01 мг/кг до 29 мг/кг. В результате изучения анксиолитического действия соединения ДАБ-21 было установлено, что противотревожный эффект изучаемого вещества зависит от времени введения. В результате проведенных экспериментов выявлено, что в течение первых 12 часов развивается максимальный анксиолитический эффект, а в последующие 12 часов происходит его постепенное снижение до уровня контроля. Полученные данные позволяют предположить о длительном анксиолитическом действии ДАБ-21, сопоставимым с длительным действием препарата сравнения диазепама. В результате проведенного исследования для дальнейших экспериментов была выбрана минимальная дозировка, проявляющая максимальный противотревожный эффект - 1,26 мг/кг (оптимальная или рабочая доза), соответствующая дозировке – 1 мг/кг препарата сравнения диазепама.

При изучении антифобических свойств соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении в тесте «Темная-светлая камера» (Таблица 3) было показано, что животные, которым вводили исследуемое вещество, совершали статистически большее количество переходов между камерами установки ($11,2 \pm 0,60$) относительно показателей контроля ($6,3 \pm 0,62$) и диазепама ($10,5 \pm 0,76$) ($p \leq 0,05$), количество времени, проведенное в светлом отсеке ($107,8 \pm 3,42$ сек) также статистически превышало показатели контроля ($58,0 \pm 5,09$ сек) и диазепама ($98,7 \pm 4,49$ сек) ($p \leq 0,05$). Было отмечено, что в поведении мышей, которым вводили соединение ДАБ-21, не наблюдалось эффектов седации, присущих диазепаму: мыши активно перемещались между отсеками, совершали вертикальные стойки и длительный груминг.

В тесте «Наказуемого взятия воды по Vogel» животные под действием соединения ДАБ-21, в минимальной дозе, вызывающей максимальный анксиолитический эффект, быстрее совершали подход к поилке после удара током ($46,0 \pm 10,78$ сек) в отличие от контроля ($562,7 \pm 11,12$ сек) и диазепама ($85,3 \pm 6,31$ сек) ($p \leq 0,05$), а также совершали большее количество подходов ($3,3 \pm 0,49$) в сравнении с другими группами – контроль ($1,00 \pm 0,01$) и диазепам ($2,7 \pm 0,33$) ($p \leq 0,05$).

В результате изучения противотревожной активности вещества ДАБ-21 в оптимальной дозе при внутрижелудочном введении в тесте «Оценка тревожно-фобического состояния

животных» (крысы) было установлено, что у животных, получавших данное соединение, значительно снижались тревога и страх (сумма баллов группы ДАБ-21 - $5,8 \pm 0,92$; группа контроля - $11,8 \pm 0,31$; группа диазепама - $5,6 \pm 0,60$ ($p \leq 0,05$)).

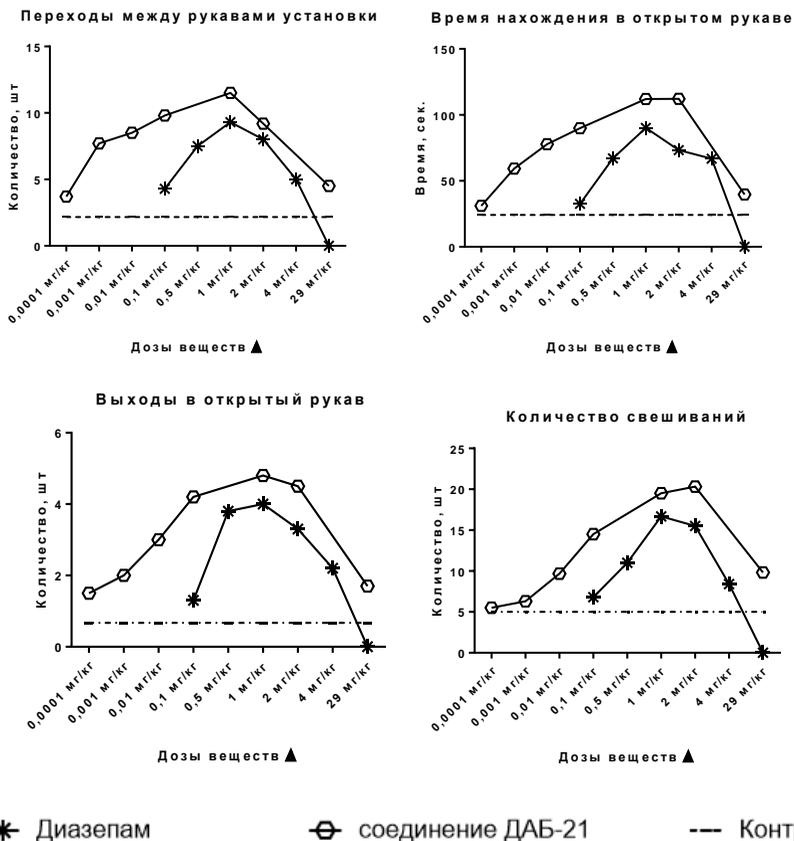


Рисунок 2. Влияние соединения ДАБ-21 и диазепама в диапазоне доз на переходы между рукавами, время нахождения в открытом рукаве, а также на выходы в открытый рукав и количество свешиваний в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при внутрижелудочном введении. ▲ – дозировки препарата сравнения диазепама, эквивалентные дозировкам соединения ДАБ-21.

При изучении противотревожной активности соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении в тесте «Открытое поле» (мыши) было зарегистрировано повышение количества пересеченных квадратов (горизонтальная активность) в сравнении с контролем и препаратом сравнения в 2,6 и 1,9 ($p \leq 0,05$) раза соответственно. Поисковая активность исследуемого соединения также увеличивалась по отношению к контролю и диазепаму в 1,6 и 2,5 раза соответственно ($p \leq 0,05$).

Таким образом, на основании полученных результатов, было доказано, что вещество ДАБ-21 имеет выраженную анксиолитическую активность, по ряду показателей не только сопоставимую, но и превосходящую препарат сравнения диазепам.

В пятой главе были изучены иные нейропсихотропные свойства соединения ДАБ-21 – обсессивно-компульсивное состояние, агрессивность при зоосоциальном взаимодействии, антидепрессивное и анальгезирующее действия.

Вещество ДАБ-21 в минимальной дозе, проявляющей максимальный анксиолитический эффект, снижало проявление навязчивых состояний (обсессий) у животных в тесте «Закапывание шариков» (число закопанных шариков при внутрижелудочном введении: ДАБ-21 – $0,5 \pm 0,22$; контроль – $11,2 \pm 1,68$; диазепам – $3,0 \pm 0,73$ ($p \leq 0,05$)).

Животные, под действием ДАБ-21 в рабочей дозе 1,26 мг/кг проявляют статистически менее выраженную агрессивность, относительно контроля и диазепама в тесте «Резидент – интродер» (акты агрессии: ДАБ-21 – $4,7 \pm 0,76$; контроль – $15,8 \pm 4,18$; диазепам – $4,8 \pm 0,65$ ($p \leq 0,05$)).

По результатам исследования антидепрессивной активности в тесте «Принудительное плавание по Porsolt» можно сделать предположение, что соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении проявляет антидепрессивное действие (показатель замирания животных: ДАБ-21 – $65,8 \pm 18,05$ сек; контроль – $223,2 \pm 29,17$ сек; диазепам – $126,2 \pm 10,30$ сек, амитриптилин - $39,2 \pm 6,08$ сек, имипрамин - $36,2 \pm 3,53$ сек ($p \leq 0,05$)).

В результате изучения анальгетической активности соединения ДАБ-21 в установленной дозе было показано, что изучаемое вещество блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном уровне (латентное время облизывания задней лапки в тесте «Горячая пластина»: ДАБ-21 – $19,7 \pm 1,31$ сек;

контроль – $12,8 \pm 0,83$ сек; буторфанол – $19,7 \pm 1,28$ ($p \leq 0,05$)), и не влияет на спинальный уровень в тесте «Отдергивание хвоста».

При изучении влияния вещества ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении на развитие миорелаксирующих свойств в зависимости от времени, было показано, что исследуемое соединение на протяжении 24 часов с момента внутрижелудочного введения не приводит к возникновению выраженной миорелаксирующей активности, характерной для классических бензодиазепиновых транквилизаторов и соответствует показателям контроля. (тест «Актметр», количество переходов животных: ДАБ-21 – $286,8 \pm 24,03$; контроль – $264,7 \pm 15,31$; диазепам – $9,7 \pm 1,09$ ($p \leq 0,05$); количество времени, проведенное животными в тесте «Ротарод»: ДАБ-21 – $29,3 \pm 0,42$ сек; контроль – $29,0 \pm 0,52$ сек; диазепам – $16,7 \pm 1,76$ ($p \leq 0,05$); мышечный тонус животных, изученный в тестах «Сетка» и «Проволока» (баллы): ДАБ-21 – $3,9 \pm 0,17$; контроль – $4,0 \pm 0,01$; диазепам – $3,2 \pm 0,17$ ($p \leq 0,05$)).

В шестой главе было изучено взаимодействие соединения ДАБ-21 с основными агонистами / антагонистами различных нейромедиаторных систем.

На основании полученных данных эксперимента, проведенного с антагонистом бензодиазепиновых рецепторов – флумазенилом (1 мг/кг), было показано снижение анксиолитической активности соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении, в результате чего можно предположить взаимодействие исследуемого вещества с бензодиазепиновым рецептором (время нахождения мышей в открытом рукаве теста «Приподнятый кретообразный лабиринт»: ДАБ-21 – $112,0 \pm 6,65$ сек; флумазенил + ДАБ-21 – $13,2 \pm 9,60$ сек; диазепам – $100,8 \pm 5,68$ сек; флумазенил + диазепам $5,5 \pm 5,5$ сек; контроль - $13,5 \pm 6,17$ сек ($p \leq 0,05$)).

Соединение ДАБ-21 в установленной дозе увеличивало эффекты 5-гидрокситриптофана на 36 % ($p \leq 0,05$) уже на 20 минуте эксперимента. Полученные результаты подтверждают наличие у изучаемого соединения моноаминергического действия.

Изучаемое вещество в минимальной дозе, проявляющей максимальный анксиолитический эффект, статистически значимо увеличивало длительность стереотипии, вызванной фенамином в 2,7 раза относительно контроля ($p \leq 0,05$), снижало каталептическое действие галоперидола на 55,6 % ($p \leq 0,05$) на 120 минуте

эксперимента и незначительно потенцировало эффекты L-ДОФА. Полученные результаты позволяют предполагать наличие влияния на дофаминовую нейротрансмиссию.

Седьмая глава является заключительным этапом исследования, в котором проводилось изучение побочных эффектов соединения ДАБ-21. В результате предварительного изучения острой токсичности (Рисунок 3) соединения ДАБ-21 на одном виде животного – мышей-самцов, величина среднесмертельной дозы (LD_{50}) при внутрижелудочном введении составляет 826,1 мг/кг, и превосходит по безопасности аналогичный показатель препарата сравнения диазепам. По уровню острой токсичности ДАБ-21, относятся к 3 классу токсичности [ГОСТ 12.1.007–76, 1976].

Для ДАБ-21 не характерно изменение функционально-поведенческого статуса животных, изученного по методу S.Irwin в дозе 1,26 мг/кг и превышающие таковую в 20 раз – 25 мг/кг и 50 раз – 63 мг/кг. Минимальные нейротоксические эффекты, связанные с изменением поведенческих реакций (вокализация), нервно-мышечных реакций (реакция на прикосновение), а также вегетативных эффектов (увеличение птоза) отмечаются при введении ДАБ-21 в дозе 126 мг/кг. В тесте «Условное предпочтение места», для соединения ДАБ-21 было показано отсутствие развития аддикции.

В восьмой главе проводится анализ и обсуждение полученной ранее информации о проведенном исследовании.

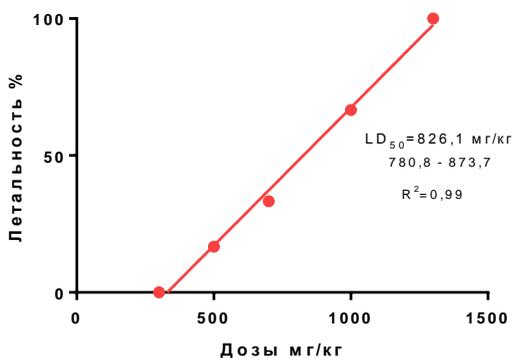


Рисунок 3. Зависимость показателя летальности от дозы вещества ДАБ-21.

В ходе скринингового изучения производных диазепино[1,2a]бензимидазола, а также в дальнейших экспериментах, было выявлено соединение, обладающие выраженной анксиолитической активностью - 11-диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2a]бензимидазола дигидрохлорид - ДАБ-21, имеющее в своей структуре в N¹¹ положении- 2-(1-пирролидил) этильный радикал, ответственный за развитие противотревожного эффекта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Производные диазепино[1,2-a]бензимидазола являются новым перспективным классом веществ, имеющем в своей структуре диазепиновый и бензимидазольный фрагменты. При первичном поиске веществ с анксиолитическим потенциалом в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» все 15 изученных соединений - производных диазепино[1,2-a]бензимидазола проявили различный уровень активности. Наиболее выраженный противотревожный эффект был зарегистрирован у соединений ДАБ-21, ДАБ-41 и ДАБ-45. Анксиолитический эффект данных веществ был сопоставим (ДАБ-41, ДАБ-45) или превышал (ДАБ-21) активность диазепамы и афобазола. Было доказано, что наличие таких радикальных заместителей в положение N¹¹ производных диазепино[1,2-a]бензимидазола как: 2-(1-пирролидил)этил (ДАБ-21), 4-хлорбензил (ДАБ-41) и 4-трет-бутилфенил (ДАБ-45) приводит к развитию выраженного анксиолитического действия, а так же не вызывает миорелаксации.

При изучении анксиолитического действия соединения-лидера ДАБ-21 в зависимости от времени и от дозы в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» было показано, что исследуемое вещество проявляет анксиолитическую активность в широком диапазоне доз от 0,01 мг/кг до 29 мг/кг, а противотревожный эффект соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг) постепенно начинает снижаться через 12 часов после введения соединения.

Было показано наличие у соединения ДАБ-21 антикомпульсивной активности, доказано влияние изучаемого вещества на снижение агрессивности, был сделан вывод о наличии у соединения ДАБ-21 антидепрессивной активности, было показано, что изучаемое вещество проявляет умеренную анальгетическую активность.

При проведении фармакологического анализа взаимодействия соединения ДАБ-21 было доказано присутствие ГАМК-ергического звена в механизме действия соединения ДАБ-21 (флумазенил), влияние на моноаминергическую систему (5-ГТФ), было показано влияние на дофаминергическую систему (фенамин, L-ДОФА, галоперидол).

LD₅₀ соединения ДАБ-21 - 826,1 мг/кг, изучаемое вещество в дозе 1,26 мг/кг и превышающей таковую в 20 раз не вызывает нейротоксикологических эффектов. Изучаемое вещество не вызывает аддикции.

ВЫВОДЫ

1. Производные на основе скаффолдов: 11-диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола, 11-алкил- и бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола и 11-фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола проявили выраженную анксиолитическую активность, превосходящую активность скаффолдов: 11-ацетамидо-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола и 11-карбокси-(карбэтокси)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола, являются перспективными для направленного поиска веществ с противотревожной активностью.

2. При изучении анксиолитической активности 15 производных 2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола было показано, что вещества проявляют различный уровень противотревожного действия в зависимости от радикальных заместителей в положении N¹¹ базовой структуры. Так, соединение, содержащее 2-(1-пирролидил) - этильный радикал (ДАБ-21), проявило высокую анксиолитическую активность, превосходящую таковую препаратов сравнения диазепам и афобазол. Соединение, содержащее 4-хлорбензильный радикал (ДАБ-41) и соединение, содержащее 4-трет-бутилфенильный радикал (ДАБ-45), проявили анксиолитическую активность, соответствующую таковой диазепам. Вещество, содержащее 4-фторфенильный радикал (ДАБ-43), проявило умеренную анксиолитическую активность, уступающую препарату сравнения диазепаму. Соединения, содержащие такие радикалы как: 4-метоксифенацил (ДАБ-9), 3,4-дихлорфенил (ДАБ-10), 4-бромфенил (ДАБ-16), 4-фторфенацил (ДАБ-32), 4-трет-бутилфенил (ДАБ-33), 2-(1-морфолинил) - этил (ДАБ-34), уксусная кислота (ДАБ-35), 4-хлорбензил (ДАБ-36, ДАБ-

41), 3,4-дихлорбензил (ДАБ-39, ДАБ-40), 4-фторфенил (ДАБ-44) не проявили выраженной анксиолитической активности.

Введение метильных групп в положениях С⁸ и С⁹ базовой структуры соединений приводит к снижению анксиолитической активности.

3. Соединение ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг, эквимолярной препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг) проявляет выраженное противотревожное действие, превосходящее препараты сравнения диазепам (1 мг/кг) и афобазол (5 мг/кг) в модели ситуативной тревожности: «Приподнятый крестообразный лабиринт», и превосходящее диазепам (1 мг/кг) в тестах «Темная-светлая камера», «Оценка тревожно-фобического состояния», «Открытое поле» и «Наказуемое взятие воды по Vogel».

4. Соединение ДАБ-21 оказывает анксиолитическое действие в широком диапазоне доз - от 0,01 мг/кг до 29 мг/кг, постепенно снижая свою активность через 12 часов после введения соединения.

5. Вещество ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг на протяжении 24 часов с момента внутрижелудочного введения не оказывает выраженного миорелаксирующего действия.

6. Соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении проявляет выраженное антикомпульсивное действие (тест «Закапывание шариков»); статистически снижает агрессивное поведение относительно контроля и не влияет на коммуникативность (тест «Зоосоциальное поведение»).

7. Вещество ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении оказывает умеренное антидепрессивное действие, не превосходящее показатели амитриптилина (10 мг/кг) и имипрамина (8 мг/кг) (тесты «Подвешивание за хвост» и «Принудительное плавание по Porsolt»).

8. Изучаемое соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении демонстрирует умеренное анальгетическое действие - блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном уровне (тест «Горячая пластина»), и не влияет на спинальный уровень (тест «Отдергивания хвоста»).

9. Анксиолитический эффект вещества ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении снижается при совместном введении с флумазенилом в дозе 1 мг/кг на 88,2 %.

10. Соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении статистически увеличивало: эффекты 5-гидрокситриптофана; действие фенамина; потенцировало эффекты L-ДОФА и снижало действие галоперидола. Соединение ДАБ-21 не влияло на эффекты: никотина; ареколина; клофелина; резерпина; пикротоксина.

11. При изучении нейротоксических изменений соединения ДАБ-21 по методу S.Irwin установлено, что вещество ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг (внутрижелудочное введение) и превышающей таковую в 20 раз не вызывает нейротоксических эффектов. Минимальные нейротоксические эффекты (вокализация, реакция на прикосновение, увеличение птоза) отмечаются при введении соединения ДАБ-21 в дозе, превышающей 1,26 мг/кг в 100 раз; в тесте «Условное предпочтение места» соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении в отличие от препарата сравнения диазепама не вызывало выработки УРПМ.

12. Величина LD₅₀ у мышей-самцов при внутрижелудочном введении составляет 826,10 мг/кг, что позволяет отнести изучаемое соединение к третьему классу токсичности [ГОСТ 12.1.007–76, 1976].

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Синтез и поиск веществ с нейропсихотропной активностью среди новых производных скаффолда 11-диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола является перспективным направлением.

2. Соединение ДАБ-21 (11-[2-(пирролидин-1-ил)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола дигидрохлорид) проявляющее широкий спектр нейропсихотропных свойств – анксиолитической, антидепрессивной и анальгетической активностей, является перспективным веществом для дальнейшего детального и расширенного доклинического изучения.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

*Статьи в ведущих рецензируемых научных журналах,
рекомендованных Минобрнауки РФ*

1. Спасов А. А., Диваева Л. Н., Мальцев Д. В., Кузьменко Т. А., Морковник А. С., **Мирошников М. В.**, Таран А.С., Золотова, Е. А.

Анксиолитический потенциал нового ряда производных диазепинобензимидазола // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета**. – 2018. – №. 3 (67). – С.19-23.

2. Жуковская О.Н., Спасов А.А., Яковлев Д.С., Косолапов В.А., Мальцев Д.В., Морковник А.С., Бабкова В.А., Бригадирова А.А., Агацарская Я.В., Таран А.С., **Мирошников М.В.**, Султанова К.Т., Корнилов В.И., Анисимова В.А. Синтез и фармакологическая активность производных С (2) - замещенных бензимидазола // **Химико-фармацевтический журнал**. – 2019. – Т. 53. – №. 3. – С. 10-15.

3. Спасов А.А., Мальцев Д.В., **Мирошников М.В.**, Таран А.С., Нурмагомедова Б.Р., Скрипка М.О., Кузьменко Т.А., Морковник А.С., Диваева Л.Н. Антидепрессивная активность и потенциальные механизмы действия производного диазепинобензимидазола ДАБ-19 // **Экспериментальная и клиническая фармакология**. – 2020. – Т. 83. – №. 4. – С. 31-36.

4. Спасов А. А., Жуковская О. Н., Мальцев Д. В., **Мирошников М. В.**, Скрипка, М. О., Султанова, К. Т., Морковник, А. С. Анксиолитическая активность производных 11Н-2, 3, 4, 5-тетрагидро [1, 3] диазепино [1, 2-а] бензимидазола и 2-меркаптобензимидазола // **Биоорганическая химия**. – 2020. – Т. 46. – №. 1. – С. 92-100.

Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:

1. Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., Мальцев Д.В., **Мирошников М.В.**, Сиротенко В.С., Султанова К.Т., Гайдукова К.А., Скрипка М.О. Нейротоксикологические свойства соединения РУ-891 с антитромбогенной активностью // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета**. – 2019. – №. 3 (71). – С.116-119.

2. Спасов А.А., Яковлев, Д.С., Мальцев Д.В., **Мирошников М.В.**, Султанова К.Т., Жуковская О.Н., Анисимова В.А., Нечаева, К. А. Нейротоксикологический профиль 5-НТ2а-антагониста производного имидазобензимидазола // **Toxicological Review**. – 2019. – Т. 154. – №. 1. – С. 23-28.

3. Золотова Е.А., **Мирошников М.В.**, Хараненко А.О., Скрипка М.О., Мальцев Д.В., Морковник А.С. Анксиолитическая активность соединений в ряду новых производных 2,3-диазепина и некоторых его структурных аналогов // Беликовские чтения Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции. 2019. С. 128-133.

4. Скрипка М.О., **Мирошников М.В.**, Гонтарева А.В. Изучение поведенческой активности новых производных бензодиазепина в тесте "Открытое поле" // Актуальные вопросы медицинской науки Сборник тезисов 73-ей Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием, посвященной

75-летию Ярославского государственного медицинского университета. 2019. С. 310.

5. Султанова К.Т., **Мирошников М.В.**, Агацарская Я.В., Мальцев Д.В., Корнилов В.И., Яковлев Д.С., Спасов А.А. Анксиолитические свойства нового 5-HT₂а-антагониста в тесте "Приподнятый крестообразный лабиринт" // Нейронаука для медицины и психологии: XV Международный междисциплинарный конгресс Под ред. Е.В. Лосевой, А.В. Крючковой, Н.А. Логиновой. 2019. С. 393-394.

6. **Мирошников М.В.**, Султанова К.Т., Скрипка М.О., Нечаева К.А., Иванова Я.А., Яковлев Д.С., Мальцев Д.В. Оценка миорелаксирующих свойств в ряду новых производных 2, 3 – бензодиазепина // Молодежь, наука, медицина материалы 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием. 2019. С. 661-663.

7. Суркова Е.О., Скрипка М.О., **Мирошников М.В.** Изучение влияния новых производных бензимидазола на поведение мышей в открытом поле // Молодёжь и медицинская наука Тезисы VII Всероссийской межвузовской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием. Редколлегия: Л.В. Чичановская [и др.]. 2019. С. 80.

8. Скрипка М.О., Нечаева К.А., Иванова Я.А., Султанова К.Т., **Мирошников М.В.**, Спасов А.А., Мальцев Д.В. Изучение влияния новых производных 2,3 - бензодиазепина на поведенческую активность мышей // Молодежь, наука, медицина материалы 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием. 2019. С. 882-884.

9. Гонтарева А.В., Скрипка М.О., **Мирошников М.В.** Изучение анксиолитической и миорелаксирующей активности нового конденсированного производного бензимидазола под шифром МАС-8 // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины материалы 76-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. 2018.-С.388.

10. **Мирошников М. В.**, Диваева Л. Н., Анисимова В. А., Морковник А. С., Скрипка М. О., Золотова Е. А., Мальцев Д.В., Спасов, А. А. Изучение анксиолитической активности новых производных диазепинобензимидазола под шифром ДАБ-21 и ДАБ-31 //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – №. S. – С. 160-161.

11. Скрипка М. О., Гонтарева А. В., Золотова Е. А., **Мирошников М. В.**, Нурмагомедова Б. Р. Нейропсихотропная активность новых производных диазепинобензимидазола под шифрами QLR-9 и QLR-10 //Молодежь-практическому здравоохранению. – 2018. – С. 909-913.

12. **Мирошников М. В.** Нейропсихотропный потенциал новых конденсированных производных бензимидазола //Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. – 2018. – С.378

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГАМК, ГАВА - γ -аминомасляная кислота

ОП – установка «Открытое поле»

ПКЛ – установка «Приподнятый крестообразный лабиринт»

ТСК – установка «Темная-светлая камера»

ТФС – тест «Оценка тревожно-фобического состояния животных»

МИРОШНИКОВ МИХАИЛ ВЛАДИМИРОВИЧ

**АНКСИОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ДИАЗЕПИНО-[1,2- α]-БЕНЗИМИДАЗОЛА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать __. __. 202__ г.
Формат 60x84/16. Печать офсетная. Усл.-печ. л. __.
Усл. изд. л. __ Тираж 100 экз. Заказ __
Отпечатано в типографии