

На правах рукописи

КОВАЛЕВ НИКОЛАЙ СЕРГЕЕВИЧ

**ПСИХОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ АДАМАНТАНОВЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Волгоград, 2021

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Научный руководитель:

Заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук,
профессор

Тюренок Иван Николаевич

Научный консультант:

кандидат медицинских наук

Бакулин Дмитрий Александрович

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

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минздрава России (НИУ «БелГУ») 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

Защита диссертации состоится «__» _____2021 г. в _____ч. на заседании Диссертационного Совета 21.2.005.02 ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 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 «__» _____2021 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. По данным ВОЗ распространенность психических заболеваний в развитых странах составляет от 2% до 15% популяции, при этом тревога и депрессия являются наиболее распространенным расстройством психики (около одной трети) (Nuss P., 2015).

Тревожно-депрессивные расстройства часто сопутствуют цереброваскулярным заболеваниям и могут стать причиной развития инсульта и транзиторных ишемических атак, а постинсультная депрессия снижает эффективность лечения и выступает одним из основных факторов повышения риска смерти (Göthe F., et al., 2012; Robinson R. G., Spalletta G., 2010). Предпринимаются попытки включения как антидепрессантов, так и анксиолитиков в фармакотерапевтическую реабилитацию после инсульта и в клинических исследованиях отмечалось как негативное (Juang H. T., Chen P. C., Chien L. L., 2015), так и положительное (Mikami K., et al., 2011; Xu. X., et al., 2016) влияние антидепрессантов на процесс восстановления после инсульта (Narushima K., Robinson R. C., 2003).

Длительное время для лечения депрессии применялись трициклические антидепрессанты (ТЦА) (амитриптилин, имипрамин и др.) (Wu Q., et al., 2020). Несмотря на высокую эффективность, они обладают существенными недостатками, основные из которых: узкий терапевтический диапазон (Khalid M. M., 2021), высокая токсичность при передозировке (Khalid M. M., 2021), тератогенный эффект и перекрестная резистентность (Gentile S., 2014), что ограничивает их применение. На данный момент наиболее популярной и назначаемой группой антидепрессантов являются представители селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС) (флуоксетин, пароксетин, циталопрам). В отличие от ТЦА, для СИОЗС значительно менее свойственны антихолинергические побочные эффекты, ортостатическая гипотензия и седация, снижен риск кардиотоксического действия при передозировке (Wang. S.M., et al., 2018), однако препараты данной группы часто вызывают нежелательные гастроэнтерологические побочные эффекты, такие как тошнота (Guo S., Yan Y., Xi J., Fei Y. L., 2020), рвота (Guo S., et al., 2020), диспепсия (Guo S., et al., 2020) и острые абдоминальные боли (Ramic. E., et al., 2020). Частым спутником на фоне приема СИОЗС является бессонница (Guo S., et al., 2020), нарастание тревоги (Guo S., et al.,

2020), отсутствие аппетита (Cartwright C., et al., 2016), повышенная утомляемость (Guo S., et al., 2020), сексуальная дисфункция (Atmаса M., 2020), агрессивность и выраженный СИОЗС индуцированный апатический синдром (Padala P. R., et al., 2020), но наиболее значимым недостатком является медленное развитие терапевтического эффекта (в течении 2-х недель) на фоне первостепенного развития побочных эффектов (Pacher P., Kecskemeti V., 2004). Более подробное изучение патогенеза депрессивных состояний способствовало появлению новых групп антидепрессантных препаратов, которые позволяют эффективнее и безопаснее корректировать депрессивные расстройства (InformedHealth., 2020).

В свою очередь тревожные, депрессивные и когнитивные расстройства являются коморбидными состояниями и имеют множество пересекающихся между собой симптомов (Kalin N. H., 2020), что негативно сказывается на состоянии пациента, так как именно сопутствующее депрессии тревожное расстройство приводит к формированию суицидальных мыслей (Keerthika M., 2020), а нарушение когнитивных функций приводит к ещё большему отягощению течения болезни и снижению уровня трудоспособности и качества жизни (Lina M., 2020). В связи с этим комбинированная терапия имеет важное клиническое значение.

Бензодиазепины являются наиболее эффективной и широко назначаемой группой анксиолитиков. Также они активно назначаются (в качестве препаратов первой линии) перед приемом СИОЗС. Несмотря на высокую эффективность, данная группа препаратов не лишена множества значительных недостатков, таких как формирование толерантности, негативное влияние на когнитивные функции, высокий риск развития лекарственной зависимости и последующего злоупотребления (Amiga G., et al 2020).

В качестве альтернативы, для лечения психических расстройств используются производные ГАМК (пикамилон, фенибут, баклофен, габапентин, прегабалин и др.) и альфа-пирролидона (фенотропил, пирацетам, прамирацетам, леветирацетам, анирацетам и др.) которым характерен широкий спектр фармакологической активности, включающий ноотропные (Parkhomenko R.I., П'ученко R. Y., 1990), анксиолитические (Kupats E., 2020), седативные (Ghanavatian S., Derian A., 2021), противосудорожные (Kupats E., et al., 2020), антидепрессантные

(Zvejniece L., et al., 2011) и церебропротекторные свойства (Volotova E.V., et al 2016), реализуемые посредством влияния на ГАМК-ергическую систему. Однако, выраженность данных эффектов в значительной степени зависит от способности проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) (Брестовицкая. В.М., и др., 2016; Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., 2011; Boonstra E., et al., 2015).

Другим подходом к воздействию на систему ГАМК является блокирование глутаматных NMDA рецепторов, приводящее к опосредованному усилению ГАМК-ергического влияния (Rodermund P., 2020). Такими свойствами обладают производные адамантана, которые широко применяются при лечении заболеваний, связанных со снижением выработки дофамина: синдромом хронической усталости (Docherty J. R., 2008), болезнью Паркинсона (Miliukhina. I.V., Gracheva E. V., 2020; Wiwanitkit V., 2020), судорожным синдромом (Wiwanitkit V., 2020), депрессивным (Leeman-Markowski., et al 2018; Krzystanek M., Pałasz A., 2020) и/или тревожным расстройством (Minkeviciene R., Banerjee P., Tanila H., 2008). Липофильная структура адамантана способствует прохождению молекулы через ГЭБ (Tsuzuki N., et al 1994) и защищает соединение и его функциональные группы от метаболического расщепления. В настоящее время в клинической практике применяется около 20 производных адамантана (Литвин Е. А., Колыванов Г. Б., Жердев В. П., 2012) (амантадин, мемантин, ремантадин и др.).

В работе была изучена психотропная активность новосинтезированных соединений – адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона. Представленные вещества должны сочетать в себе свойственную некоторым производным адамантана антидепрессантную активность, а также анксиолитические и ноотропные свойства, характерные для производных ГАМК. Предполагается, что данная комбинация позволит создать соединение, эффективно устраняющее выраженность тревожно-депрессивных и когнитивных расстройств. Представленные выше данные позволяют считать целесообразным скрининг в ряду новых адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона веществ с анксиолитической, антидепрессантной и ноотропной активностью.

Утверждение темы диссертационного исследования состоялось на заседании Ученого совета ВолгГМУ (протокол №3 от 15.05.2019), в дальнейшем, в связи с полученными в ходе работы

результатами была изменена на текущую на заседании Ученого совета ВолГМУ (протокол №1 от 12.05.2021).

Степень разработанности. На сегодняшний день для производных адамантана установлен широкий спектр фармакологической активности – анксиолитическая (Oliyuk S., Seikwan Oh., 2012), антидепрессантная (Krzystanek M., Pałasz A., 2020), адаптогенная (Panossian A., 2017), ноотропная (Koola M. M., 2020), противовирусная (Araújo R., Aranda-Martínez J.D., Aranda-Abreu G.E., José Dolores Aranda-Martínez., 2020; Krzystanek M., Pałasz A., 2020) и др.

Производные ГАМК и альфа-пирролидона также обладают различными фармакологическими свойствами – ноотропными (Napoletano F., et al 2020), анксиолитическими (Lapin I., 2001), антидепрессантными (Abramets I. I., et al., 2019), психостимулирующими (Docherty J. R., 2008), седативными (Zheng K. H., Khan A., Espiridion E.D., 2019) и противосудорожными (Zheng K. H., Khan A., Espiridion E.D., 2019).

Однако гибридные производные ГАМК и альфа-пирролидона с адамантановыми заместителями мало исследованы (Schneider P., Schneider G., 2017), что и послужило основанием для выполнения данной работы.

Цель исследования. Изучить психотропные свойства и возможный механизм действия адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона

Задачи исследования:

1. Изучить психотропные свойства новых оригинальных адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона.
2. Провести изучение острой токсичности наиболее активных веществ.
3. Провести изучение антидепрессантного и анксиолитического действия наиболее активных соединений на модели социальной депрессии.
4. Оценить психотропное и нейропротективное действие наиболее активных соединений у животных с нарушением мозгового кровообращения.
5. Провести изучение возможного нейрохимического механизма действия наиболее активных соединений.

Научная новизна исследования. Впервые были изучены психотропные свойства новых производных ГАМК и альфа-пирролидона с адамантановыми заместителями. В экспериментальных исследованиях выявлено наличие у соединений ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) и ТИМ-2 (1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он) антидепрессантной, анксиолитической и ноотропной активности у животных без патологии, а также в условиях экспериментальной депрессии и нарушения мозгового кровообращения.

Выявлено соединение ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) с выраженной антидепрессантной, ноотропной и умеренной анксиолитической активностью. Соединение ВКМ-22 по активности превосходит препарат сравнения имипрамин. Данное вещество мало токсично LD₅₀ составляет 2860±128 мг/кг, а терапевтический индекс выше, чем у препаратов сравнения имипрамина и флуоксетина. Изучаемое соединение может позиционироваться как антидепрессант, который в отличие от референтных препаратов отличается наличием дополнительного анксиолитического и ноотропного эффекта.

Изучение возможного фармакологического взаимодействия с агонистами и антагонистами различных нейромедиаторных систем, позволило предположить, что антидепрессантный эффект адамантанового производного ГАМК (ВКМ-22) реализуется посредством его стимулирующего влияния на дофамин-эргическую систему (исследуемое соединение вызывало снижение выраженности галоперидоловой каталепсии и усиление вертикализации, опосредованной введением апоморфина), а анксиолитический эффект реализуется посредством позитивного влияния на ГАМК-эргическую систему (исследуемое соединение вызывало снижение продолжительности коразоловых и пикротоксиновых судорог). При докировании соединения ВКМ-22 установлено, что оно имеет несколько мест связывания с ГАМК-А рецепторами.

Теоретическая и практическая значимость работы. Выявленные в ходе исследования зависимости между антидепрессивной, анксиолитической и ноотропной активностью адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона и их структурой позволили расширить знания о данной группе соединений и могут служить основой для продолжения направленного поиска новых

соединений с психотропными свойствами в ряду гибридных соединений адамантановых производных ГАМК. Полученные данные о наличии анксиолитической, антидепрессантной и ноотропной активности, а также низкой токсичности адамантанового производного ГАМК (ВКМ-22) свидетельствуют о целесообразности дальнейшего углубленного изучения его терапевтического потенциала с целью разработки нового лекарственного препарата для лечения тревожно-депрессивных и когнитивных расстройств.

Методология и методы исследования. Исследование проводилось на нелинейных половозрелых крысах и мышах обоего пола и было выполнено в соответствии с рекомендациями по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Миронов А.Н., и др., 2012) с использованием стандартных, современных методических подходов, применяющихся на базе Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством (НЦИЛС) в ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась в программе GraphPad Prism 6 с использованием дисперсионного анализа и параметрического t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони или рангового однофакторного анализа Краскела-Уолиса с последующим тестом Дана. Для проверки распределения на нормальность использовали критерий Шапиро-Уилка. Различия при $p < 0,05$ расценивались как статистически значимые.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. В ряду адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона выявлены соединения ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) и ТИМ-2 (1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он), проявляющие выраженную сочетанную антидепрессантную, анксиолитическую и ноотропную активность у животных без патологии, а также в условиях экспериментальной депрессии и нарушения мозгового кровообращения, что обосновывает перспективность поиска среди них новых эффективных психотропных средств.
2. Соединение ВКМ-22 проявляет комбинированное психотропное действие, включающее выраженный антидепрессантный, анксиолитический и ноотропный эффекты у экспериментальных животных в условиях депрессии и нарушения мозгового кровообращения; обладает низкой токсичностью и потенциально

высокой лекарственной безопасностью, что указывает на перспективность его дальнейшего изучения с целью возможного внедрения в клиническую практику в качестве психотропного препарата.

3. Изучение возможного механизма действия адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона позволяет предположить, что психотропная активность ВКМ-22 связана с стимулирующим влиянием на дофамин- и ГАМК-ергическую систему.

Степень достоверности. Степень достоверности полученных результатов подтверждена достаточным объемом и качеством проведенных исследований, которые осуществлялись на мышах и крысах обоего пола. В работе использовались современные методы, оборудование и СОПы (Стандартные операционные процедуры) адекватные поставленным задачам, все этапы проведенного исследования осуществлялись в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с психотропной активностью, с использованием соответствующих критериев статистической обработки.

Личный вклад автора. Автором был самостоятельно проведен поиск и анализ как отечественных, так и зарубежных источников литературы. Принималось участие на всех этапах планирования и выполнения исследования по изучению фармакологической активности, антидепрессантного, анксиолитического и ряда других аспектов психотропного действия новых адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона. Автором осуществлялось обсуждение, описание результатов, подготовка публикаций по результатам выполненного исследования, разработка практических рекомендаций. В ходе работы над диссертацией автором выполнен анализ первичных данных, проведена их статистическая обработка, обобщение полученных результатов, формулировка выводов, подготовка рисунков, таблиц и оформление рукописи.

Апробация полученных результатов. Основные результаты диссертационной работы были представлены на научно-практических конференциях: 78 – открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием (Волгоград, 2020–2021 гг.). XXIV Региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области (Волгоград, 2019 г.).

По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ в том числе 3 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

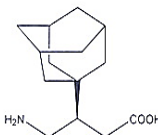
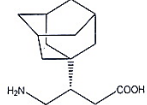
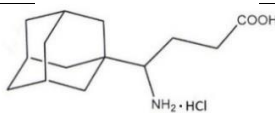
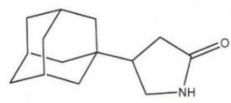
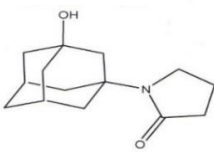
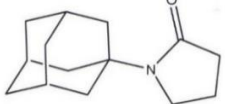
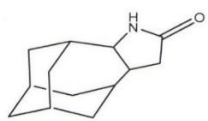
Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 4 глав собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, научно-практические рекомендации, список литературы, содержащий 216 источников из них 26 отечественных и 190 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 14 рисунками и содержит 20 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе проведен анализ отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертации. Представлены основные группы препаратов для лечения тревожно-депрессивных расстройств, одобренные для клинического применения. Представлен современный взгляд на проблему тревожно-депрессивных нарушений. Рассмотрены основные механизмы и системы, лежащие в основе развития данных расстройств, на основании этого сформулирована концепция данного исследования.

Во второй главе диссертации описаны материалы и методы исследования (Рисунок 1). В работе проводилось изучение 7-ми новых производных ГАМК и альфа-пирролидона под следующими лабораторными шифрами ANR, IE, ВКМ и ТИМ. Все исследуемые соединения были синтезированы на кафедре органической химии Самарского государственного технического университета (Самара, Россия). Лабораторные шифры, структурные формулы и молекулярные массы исследуемых соединений представлены ниже (Таблица 1).

Таблица 1. Структуры адамантановых производных ГАМК

Адамантановые производные ГАМК			
№	Шифр	Структурная формула	Mr
1	ANR-03 (R)-(3-адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота хлоридат		273
2	ANR-04 (S)-(3-адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота хлоридат		273
3	ВКМ-22 4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота		273
Адамантановые производные альфа-пирролидона			
4	ANR-10 4-(1-адамантил) пирролидин-2-он рацемат		219
5	IE-1 1-(3-гидроксиадамантан-1-ил)пирролидин-2-он		235
6	TIM 2 1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он		219
7	TIM 3 (3aS, 10aS)-декагидро-4,8:6,10-диметаноциклонон[b]пиррол-2(1H)-он		205

Экспериментальные исследования осуществлялись на 380 крысах самцах линии «Wistar» массой 200–250 г, а также на 330 самцах и 30 самках мышей весом 18-25 г. Животные содержались в условиях вивария кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ВолгГМУ, с естественным световым режимом при относительной влажности воздуха 40-50% и температуре 22-24°С на стандартной полнорационной диете для лабораторных животных (ГОСТ 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. Все эксперименты были одобрены к проведению Региональным независимым этическим комитетом при ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр» (протокол №2021/034 от 19.04.2021 года).

В качестве препаратов сравнения использовались: Фонтурацетам (Фенотропил) – 20 мг/кг (синтезирован на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена (Санкт-Петербург, Россия), Диазепам – 1 мг/кг (Simplex pharma Pvt. Ltd., Индия), Флуоксетин 20 мг/кг (Флуоксетин-Канон, капс; ЗАО «Канонфарма продакшн», Щелково, Россия), Имипрамин 15 мг/кг (ОАО Фармацевтический завод ЭГИС, Будапешт, Венгрия), Фенибут 20 мг/кг (субстанция, получена на каф. органической химии РГПУ им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия), Амантадин 60 мг/кг (Merz Pharma, Германия), Цитиколин 500 мг/кг (Феррер Интернасьональ С.А.). На этапе скрининга исследуемые соединения вводились однократно перорально в эквиволярных дозах (в соотношении 1/40, 1/20, 1/10 и 1/5 от Мг). Проведённое исследование психотропной активности на этапе скрининга позволило выявить наиболее активные соединения и их наиболее эффективные дозы.

Этап исследования	Методы
Изучение психотропных свойств исследуемых соединений	
Выбор наиболее активных соединений	Открытое поле Приподнятый крестообразный лабиринт Условная реакция пассивного избегания Тесте экстраполяционного избавления Принудительное плавание по Porsolt Подвешивание мышей за хвост
Сравнение наиболее активных соединений в наиболее эффективной дозе с референтными препаратами	Открытое поле Приподнятый крестообразный лабиринт Условная реакция пассивного избегания Тесте экстраполяционного избавления Принудительное плавание по Porsolt Подвешивание мышей за хвост Тест конфликтной ситуации, вариант Vogel Исследование острой токсичности
Оценка действия в условиях патологического процесса	
Антидепрессантное действие	Моделирование социальной депрессии
Нейропсихомоделирующее действие	Моделирование острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) Моделирование хронического нарушения мозгового кровообращения (ХНМК)
Определение возможного механизма действия	
Изучения возможного взаимодействия с нейромедиаторными системами головного мозга	Галоперидоловая каталепсия Апоморфиновая вертикализация Никотиновый тремор Ареколиновый тремор 5-окситриптофановый гиперкинез Коразоловые судороги Пикротоксические судороги

Рисунок 1. Дизайн экспериментального изучения психотропных свойств адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона

На первом этапе для изучения психотропных свойств адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона использовали следующие поведенческие тесты: «Открытое поле» (ОП) (Воронина Т. А., 2000, 2012; Островская Р.У., 2012); «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (Воронина Т.А., 2000, 2012; Островская Р. У., 2012).

Для изучения влияния ряда исследуемых соединений на когнитивную и мнестическую функцию использовались тесты: «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) (Воронина Т. А., Островская Р.У., 2005) и тест «Экстраполяционного избавления» (ТЭИ) (Воронина Т. А., Островская Р. У., 2005).

Для более подробного изучения выявленной психоактивирующей, ноотропной, противотревожной и

антидепрессантной активности исследуемых соединений было проведено исследование их психотропных свойств в наиболее эффективных дозах в сравнении с референтными препаратами. Подтверждение выявленной анксиолитической активности осуществлялось при помощи дополнительно проведенного теста: «Конфликтной ситуации» (Vogel) (Vogel J. R., 1971), а для подтверждения выявленной антидепрессантной активности: «принудительное плавание по Porsolt» (Porsolt R. D., 2001) и «Подвешивание мышей за хвост» (ПМХ) (Миронов А. Н., 2012)

Оценка острой токсичности исследуемых соединений была выполнена в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Воронина Т.А., 2000, 2012; Островская Р.У., 2012).

С целью более подробного изучения антидепрессантного действия исследуемых соединений в условиях патологического процесса, осуществляли формирование у лабораторных мышей депрессивно-подобного состояния посредством моделирования социальной депрессии (Рисунок 2) (Ясенявская А. Л., Хамидуллаевна М. В., 2017).

Для оценки выраженности депрессивного состояния у животных, проводилась батарея поведенческих тестов (Рисунок 2): поведенческое отчаяние оценивали в тестах «принудительное плавание по Porsolt» (Porsolt R. D., 2001) и «подвешивание за хвост» (Миронов А. Н., 2012) уровень социализации животных оценивался в тесте «социального взаимодействия»; (Liu X., et al., 2018) уровень тревожности оценивали в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (Воронина Т.А., 2000, 2012; Островская Р. У., 2012); двигательную и исследовательскую активности оценивали в тесте «Открытое поле» (Воронина Т. А., 2000, 2012; Островская Р.У., 2012).

После подтверждения наличия симптомов развившегося депрессивного состояния, начинался этап 10 дневного лечения, которое проводилось на фоне продолжения ежедневных социальных конфронтаций. При этом за 60 минут до начала манипуляций, в зависимости от группы (n=10), животные получали соответствующие вещества: «Интакт», «Депрессия+физ.р-р» – 0,9% раствор NaCl, «Депрессия+ВКМ-22» – ВКМ-22 в дозе 14 мг/кг, «Депрессия»+ТГМ-2 в дозе 11 мг/кг, «Депрессия+Имипрамин» – Имипрамин в дозе 15 мг/кг. Доза исследуемых соединений была

выбрана, как наиболее эффективная по результатам предыдущих исследований, доза препарата сравнения выбрана по литературным данным (Ramirez K., Sheridan J. F., 2016).

Спустя 10 дневной терапии, животные повторно проходили батарею поведенческих тестов в той же последовательности, что и ранее, но уже с целью оценки эффективности исследуемых веществ.

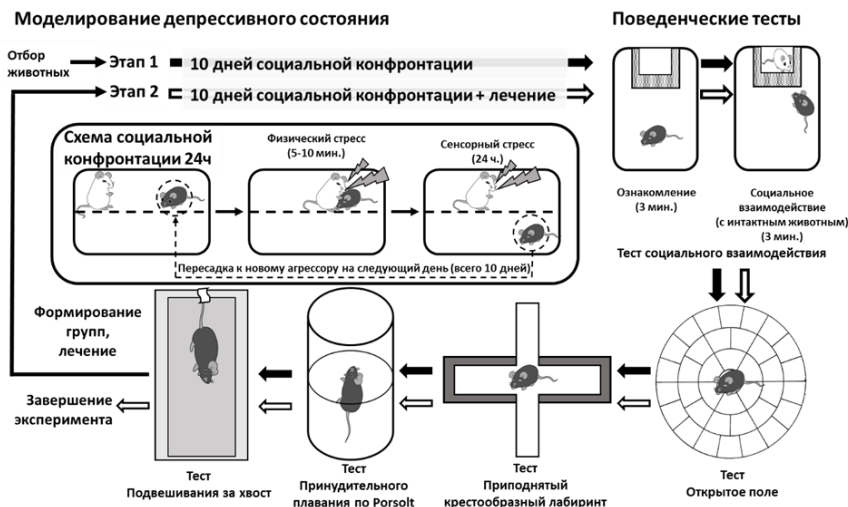


Рисунок 2. Дизайн моделирования социальной депрессии

Влияние исследуемых соединений на психоневрологический дефицит изучали на животных, которым моделировали необратимую окклюзию общих сонных артерий под золетил-ксилазиновым наркозом (20 и 8 мг/кг соотв.) (Волотова Е. В., и др., 2016). Оценивали влияние их курсового введения на выраженность неврологического дефицита (при начале лечения через 24 часа после операции и 7 дней введения), а также на уровень тревоги, депрессии и социализацию (при начале лечения через 40 суток после операции и 14 дней введения) у животных с нарушением мозгового кровообращения.

Фармакологический анализ заключался в изучении взаимодействия адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона с дофаминергической системой (по влиянию на выраженность вертикализации, вызванной апоморфином и по

влиянию на каталептогенный эффект галоперидола) (Воронина Т. А., Островская Р. У., 2005); с холинергической системой (по влиянию на ареколиновый и никотиновый тремор) (Миронов А.Н., 2012); с серотонинергической системой (по влиянию на 5-окситриптофан индуцированный гиперкинез) (Воронина Т. А., 2008); с ГАМК-ергической системой (по влиянию на судороги, вызванные пикротоксином и коразолом) (Воронина Т. А., Островская Р. У., 2005).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакетов следующих программ: Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft, США) и Prism 6 (GraphPad Software, США). Для проверки распределения на нормальность использовали критерий Шапиро-Уилка. В зависимости от распределения данных использовали следующие методы статистического анализа: однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA) либо ранговый однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с последующим применением апостериорных (post hoc) критериев (t критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони либо критерия Дана).

В третьей главе представлены результаты собственных исследований изучения психотропной активности адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона. В ходе проведенного фармакологического скрининга среди исследуемых соединений были выявлены наиболее активные под лабораторными шифрами ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) и ТИМ-2 (1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он), которые обладают выраженной антидепрессантной активностью в тестах подвешивание мышей за хвост и принудительное плавание по Porsolt, антифобической активностью в условиях переменной стрессогенности теста ПКЛ, а также ноотропными свойствами по результатам теста Условная реакция пассивного избегания и теста Экстраполяционного избавления.

После проведенного скринингового исследования осуществлялось изучение острой токсичности наиболее активных соединений, так показатель LD_{50} для соединения ВКМ-22 составлял 2860 ± 128 мг/кг, а для соединения ТИМ-2 1820 ± 205 мг/кг.

В четвертой главе представлены результаты углубленного изучения антидепрессантной активности исследуемых соединений

ВКМ-22 и ТИМ-2 на модели социальной депрессии (Таблица 2 и Таблица 3).

Таблица 2. Показатели поведения животных в тесте «Открытое поле», «принудительное плавание по Porsolt», «подвешивание за хвост» и «социальное взаимодействие» до и после лечения

Группы	Интакт	Депрессия +физ.р-р	Депрессия +ВКМ-22	Депрессия +ТИМ-2	Депрессия +Имипрамин
Тест «принудительного плавания по Porsolt». Продолжительность иммобилизации в секундах					
До лечения	154±12	421±15#	395±12	434±15	403±11
После лечения	240±10	397±58#	113±6*	242±18*	138±12*
Тест «подвешивание за хвост. Продолжительность иммобилизации в секундах					
До лечения	208±12	287±16#	421±13	396±21	423±27
После лечения	205±7	475±10#	125±10*	422±45	130±8*
Тест «социального взаимодействия». Количество подходов к партнеру.					
До лечения	5,7±0,3	1,4±0,2#	2,1±0,3	1,8±0,4	1,4±0,2
После лечения	7,6±0,6	0,9±0,1#	5,8±0,5*	2±0,6*	2,9±0,2*
Продолжительность взаимодействия с партнером в секундах. Тест «социального взаимодействия»					
До лечения	23,8±1,8	3,9±0,4#	4±0,6	3,8±0,3	4±0,4
После лечения	18,4±2	2±0,3#	12,8±0,7*	2,4±0,6	7,1±0,6*
Количество пересеченных квадратов. Тест «Открытое поле»					
До лечения	69,8±2,3	6,5±1,8#	3,8±0,7	4±0,8	6,4±1
После лечения	43,6±3,9	4±2,3#	51,6±4,3*	26±9*	41,2±4,5*
Ориентировочно-исследовательская активность (сумма стоек и норок). Тест «Открытое поле»					
До лечения	18,3±1,8	0,3±0,2#	0,1±0,1	0,4±0,3	0,4±0,2
После лечения	3,3±0,5	0,3±0,2#	12,3±1,2*	5±2*	7,2±1,4*

*Примечание: * - отличия от группы «Депрессия+физ. р-р» статистически значимы ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Дана); # - отличия от группы интакт статистически значимы ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни);*

Таблица 3. Показатели поведения животных в тесте приподнятый крестообразный лабиринт до и после лечения

Латентный период выхода в открытый рукав (ПКЛ, сек)					
	Интакт	Депрессия +физ.р-р	Депрессия +ВКМ-22	Депрессия +ТММ-2	Депрессия +Имипрамин
До лечения	92±28,5	169±11#	180±0	180±0	164,1±15,9
После лечения	107,9±28,6	180±0#	78,9±29,9*	123±22*	161,3±3
Продолжительность нахождения в открытых рукавах (ПКЛ, сек)					
До лечения	23,2±12	3,1±3,1#	0±0	0±0	0,2±0,2
После лечения	12,1±6,7	0±0#	28,3±9,8*	31±11*	3,4±3,4
Продолжительность нахождения в центральной зоне (ПКЛ, сек)					
До лечения	37,6±3,8	161,1±7,4#	141,1±18	148±13	128,2±18,8
После лечения	31,7±2,4	102,8±29,7#	33,6±4,6*	74±9*	47,9±3,8*
Количество пересечений центральной зоны (ПКЛ)					
До лечения	5,9±0,5	2,1±0,5#	2,3±0,4	2,7±0,3	3±0,2
После лечения	3,8±0,3	0,5±0,2#	4,9±0,4*	3,8±0,5*	4,9±0,4*
Продолжительность нахождения в закрытых рукавах (ПКЛ, сек)					
До лечения	119±13,6	15,8±6,1#	38,9±18	32±16	51,6±18,8*
После лечения	136,2±7,4	77,3±29,7#	118,1±10,9*	75±23	128,7±2,8*
Количество стоек в закрытых рукавах (ПКЛ)					
До лечения	4,2±0,8	0±0#	0±0	0±0	0±0
После лечения	2,6±0,2	0±0#	2,8±0,3*	0±0	2,4±0,3*

*Примечание: * - отличия от группы «Депрессия+физ. р-р» статистически значимы ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Дана); # - отличия от группы интакт статистически значимы ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни);*

20-дневная социальная конфронтация, построенная на основе сенсорного контакта, вызывает у животных (испытывающих постоянные неудачи и хронический стресс) подавленные состояния, снижение реактивности и активности в виде «выученной беспомощности» и «поведенческого отчаяния».

Исследуемое адамантановое производное ГАМК, соединение ВКМ-22, при курсовом введении животным с депрессий, более

эффективно, чем препарат сравнения имипрамин устраняло проявление депрессии, восстанавливало двигательную и исследовательскую активность и более выражено снижало тревогу, а также нормализовало социализацию депрессированных животных.

Исследуемое адамантановое производное альфа-пирролидона, соединение ТИМ-2 обладало антидепрессантной активностью в условиях социальной депрессии вызванной ежедневными конфронтациями, однако полученные результаты уступали препарату сравнения имипрамину и исследуемому адамантановому производному ГАМК (ВКМ-22).

В пятой главе представлены результаты терапевтического эффекта производного ГАМК ВКМ-22 и альфа-пирролидона (ТИМ-2) в условиях экспериментальной ишемии головного мозга и проведена оценка влияния терапии на выраженность неврологического дефицита на фоне нарушения мозгового кровообращения (Рисунок 3), а также на тревожно-депрессивное состояние у животных на фоне хронического нарушения мозгового кровообращения (Рисунок 4).

Исследуемое адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) и альфа-пирролидона (ТИМ-2), которые вводили животным на протяжении 7 суток, спустя 24 часа после перевязки общих сонных артерий статистически значимо снижали выраженность сенсорных, моторных и когнитивных нарушений на сопоставимом с референтным препаратом (цитиколин) уровне (Рисунок 3).

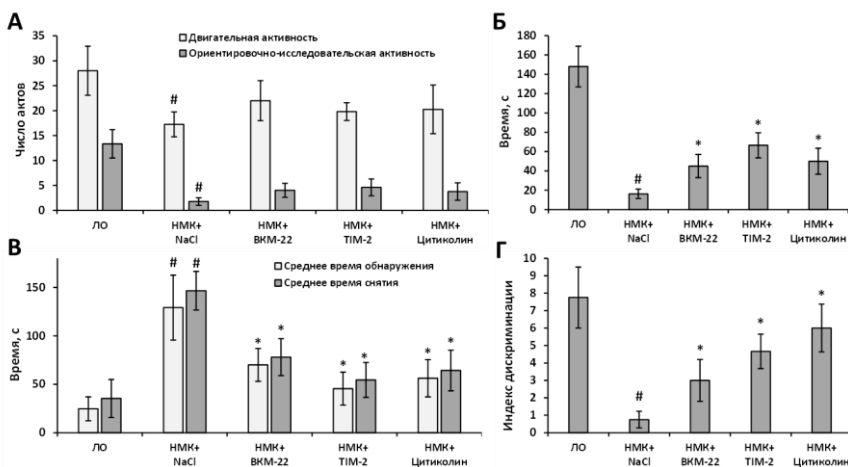


Рисунок 3. Двигательная и ориентировочно-исследовательская активность животных в тесте Открытое поле (А), время

удержания на вращающемся стержне в тесте Ротарод (Б), время обнаружения и снятия стикера в Адгезивном тесте (В) и индекс дискриминации в тесте распознавание нового объекта (Г)

При курсовом введении в условиях хронического нарушения мозгового кровообращения, адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) и альфа-пирролидона (ТИМ-2) способствуют снижению выраженности тревожной и депрессивной симптоматики, а также восстановлению социализации животных на фоне ХНМК (Рисунок 4).

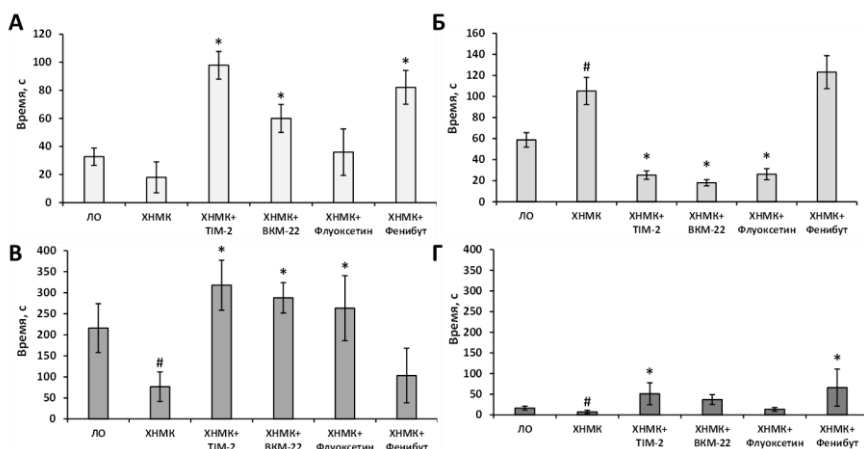


Рисунок 4. Продолжительность нахождения в открытых рукавах в тесте ПКЛ (А), продолжительность иммобилизации в тесте Porsolt (Б), продолжительность нахождения животных в левой камере с социальным объектом (В) и правой камере с несочетательным объектом (Г) в Трёхкамерном социальном тесте

В шестой главе отражены результаты нейрофармакологического анализа взаимодействия с нейротрансмиттерными системами ЦНС (Таблица 4).

Для соединения ВКМ-22 было отмечено влияние на дофаминергическую систему: снижение продолжительности каталепсии при введении галоперидола и повышение продолжительности вертикализации при введении апоморфина.

Также для соединения ВКМ-22 было выявлено незначительное влияние на систему ГАМК.

Полученные результаты позволяют предположить, что механизм антидепрессантного действия производного ГАМК с адамантильным заместителем в гамма-положении – соединение ВКМ-22, связан с его взаимодействием с дофаминергической системой, а умеренная анксиолитическая активность может быть также связана с незначительным влиянием на систему ГАМК.

Таблица 4. Взаимодействие соединения ВКМ-22 с агонистами/антагонистами различных нейромедиаторных систем *in vivo*.

Группа	n	Регистрируемый показатель
Дофаминергическая система		
Продолжительность катаlepsии через 120 минут после введения галоперидола, с		
Контроль	10	105,3±5,1
ВМА-22	8	31,2±8,7*
ТИМ-2	8	109,9±3,9
Продолжительность апоморфиновой вертикализации, мин		
Контроль	10	35±2,2
ВМА-22	8	54,8±3,1*
ТИМ-2	8	35,8±1,8
ГАМК-ергическая система		
Продолжительность тонических судорог при введении коразола, с		
Контроль	10	86,2±18,3
ВМА-22	8	52,5±14,5
ТИМ-2	8	34,4±6,6*
Продолжительность тонических судорог при введении пикротоксина, с		
Контроль	10	76,3±5,6
ВКМ-22	8	59,5±5,5
ТИМ-2	8	23,0±2,7*
Холинергическая система		
Продолжительность тремора, вызванного введением никотина, с		
Контроль	10	302,7±7,7
ВКМ-22	8	296,7±8,1
ТИМ-2	8	306,7±6,3
Продолжительность тремора, вызванного введением ареколина, с		
Контроль	10	502,8±9,2
ВКМ-22	8	508,8±12,7
ТИМ-2	8	504,1±8,6
Серотонинергическая система		
Среднее количество кивательных движений (гиперкинез), через 30 минут после введения 5-окситриптофана		
Контроль	10	17,0±1,0
ВКМ-22	8	18,2±0,9
ТИМ-2	8	15,8±1,6

*Примечание: * – различия достоверны относительно группы «Контроль» при $p < 0,05$ (критерий Дана); n – число животных в группе.*

Для соединения ТИМ-2 было отмечено влияние на систему ГАМК: при введении коразола и пикротоксина у животных, получивших ТИМ-2, отмечалось сокращение продолжительности тонических судорог в сравнении с контрольной группой. Учитывая связь судорожного действия коразола и пикротоксина с подавлением тормозящей функции ГАМК, можно предполагать, что выявленные психотропные свойства соединения ТИМ-2 обусловлены активацией ГАМК-ергической системы. В ходе дальнейшего исследования для соединения ТИМ-2 не было выявлено взаимодействия с дофаминергической, холинергической и серотонинергической системами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате исследования психотропной активности ряда адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона было выявлено низкотоксичное соединение ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота), которое посредством активирующего влияния на дофамин- и ГАМК-ергическую систему проявляло анксиолитическую, антидепрессантную и ноотропную активность у интактных животных, а также в условиях экспериментальной депрессии и при нарушении мозгового кровообращения. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности дальнейшего углубленного изучения его терапевтического потенциала с целью разработки нового лекарственного препарата для лечения тревожно-депрессивных и когнитивных расстройств.

ВЫВОДЫ

1. Среди новых адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона выделено соединение с адамантаном в гамма-положении ГАМК (ВКМ-22), обладающее выраженной антидепрессантной, ноотропной и умеренной анксиолитической активностью, а также производное альфа-пирролидона с адамантаном в первом положении (ТИМ-2), обладающее выраженной анксиолитической, умеренной антидепрессантной и ноотропной активностью.

2. Адамантановые производные ГАМК и альфа-пирролидона при однократном пероральном введении обладают низкой токсичностью (LD_{50} составляло 2860 ± 128 мг/кг и 1820 ± 205 мг/кг для ВКМ-22 и ТИМ-2 соответственно).
3. Адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) обладает выраженной антидепрессантной активностью при курсовом введении в условиях социальной депрессии. Антидепрессантное действие ВКМ-22 было сопоставимо с таковым у имипрамина, но при этом соединение ВКМ-22 также способствовало снижению выраженности тревоги и повышению уровня социализации животных.
4. У животных, с экспериментальной ишемией головного мозга, курсовое введение адамантанового производного ГАМК (ВКМ-22) и альфа-пирролидона (ТИМ-2) выражено снижали сенсорно-моторные, тревожно-депрессивные, когнитивные нарушения и способствовали повышению социализации животных.
5. Адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) реализует свои фармакологические эффекты посредством стимулирующего влияния на дофамин- и ГАМК-ергическую систему, а адамантановое производное альфа-пирролидона (ТИМ-2) реализует свои эффекты посредством стимулирующего влияния на ГАМК-ергическую систему.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно продолжить дальнейший поиск соединений с различными психотропными свойствами в ряду адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона с различными заместителями.
2. Соединения ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) и ТИМ-2 (1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он) являются перспективными для дальнейшего углубленного изучения, с целью разработки на их основе лекарственных средств, обладающих антидепрессантным, противотревожным и ноотропным действием.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

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

1. **Ковалев Н.С.**, Бакулин Д.А., Куркин Д.В., Дубровина М.А., Тарасов А.С., Климочкин Ю.Н., Ткаченко И.М. Церебропротекторная активность нового каркасного производного альфа-пирролидона в условиях экспериментальной ишемии головного мозга // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.** – 2021. – Т.1. №77. – С.98-101.
2. **Ковалев Н.С.**, Бакулин Д.А., Абросимова Е.Е., Саблина Л.А., Воронцов М.Ю., Фомичев Е.А., Тюренков И.Н., Климочкин Ю.Н., Бормашева К.М., Каримова А.Ю., Ткаченко И.М. Антидепрессантное действие адамантанового производного ГАМК на модели социальной депрессии // **Современные проблемы науки и образования,** – 2021. – №4, doi: 10.17513/spno.30962.
3. **Ковалев Н.С.**, Бакулин Д.А., Абросимова Е.Е., Саблина Л.А., Воронцов М.Ю., Фомичев Е.А., Тюренков И.Н., Климочкин Ю.Н., Бормашева К.М., Каримова А.Ю., Ткаченко И.М. Влияние нового адамантанового производного ГАМК на уровень неврологического дефицита в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения // **Современные проблемы науки и образования,** – 2021. – №5, doi: 10.17513/spno.31025.
4. Климочкин Ю.Н., Ткаченко И.М., Резников А.Н., Ширяев В.А., Казачкова М.С., **Ковалев Н.С.**, Бакулин Д.А., Абросимова Е.Е., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Синтез и оценка психотропной активности каркасных производных альфа-пирролидона // **Биоорганическая химия,** принято в печать

Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:

1. **Ковалев Н.С.**, Дубровина М.А. Исследование психотропных свойств адамантановых производных ГАМК. // В сборнике: 78-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. – 2020. – С.240-240а
2. Абросимова Е.Е., Дубровина М.А., **Ковалев Н.С.** Анксиолитическое действие новых производных альфа-пирролидона. // В сборнике: 78-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. – 2020. – С.237.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

СИОЗС – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина

ТЦА – трициклические антидепрессанты

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ЦНС – центральная нервная система

ПКЛ – установка «приподнятый крестообразный лабиринт»

ОП – установка «открытое поле»

ПМХ – подвешивание мышей за хвост

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения

КОВАЛЕВ НИКОЛАЙ СЕРГЕЕВИЧ

**ПСИХОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ АДАМАНТАНОВЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА**

3.3.6 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