

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВОЛГОГРАДСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР**

На правах рукописи

МАЛЬЦЕВ ДМИТРИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

**АНКСИОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЗОСТЕРОВ
БЕНЗОДИАЗЕПИНОВОГО И БЕНЗИМИДАЗОЛЬНОГО СКАФФОЛДОВ
И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:
Спасов Александр Алексеевич
академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

Волгоград, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	9
Актуальность темы исследования	9
Реализация результатов исследования.....	15
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ ТРЕВОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ	19
Актуализированные подходы к поиску анксиолитических средств.....	23
Достижения в разработке препаратов с противотревожным действием.....	52
Заключение	57
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	59
2.1 Материалы исследования	59
2.2 Методы исследования.....	62
2.2.1 Изучение анксиолитической активности по базисным поведенческим тестам	63
2.2.2 Дополнительные тесты для расширенного исследования анксиолитической активности.....	66
2.2.3 Методы исследования сопутствующих психотропных эффектов	68
2.2.4 Исследование возможных анксиолитических механизмов действия наиболее активных соединений.....	73
2.2.5 Методы компьютерного прогноза анксиолитической активности	79
2.2.6 Изучение сопутствующих побочных действий, возможной лекарственной зависимости и острой токсичности	80
2.2.7 Нейросетевое моделирование анксиолитической активности	82
2.3 Методы статистической обработки данных.....	93
ГЛАВА 3. ПОИСК СОЕДИНЕНИЙ С АНКСИОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ	94
3.1 Прогноз перспективности изучения изостеров бензодиазепина и бензимидазола с применением тест-системы PASS.....	94
3.2 Поиск анксиолитически активных соединений в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»	96

3.2.1 Производные C ² ,C ³ -хиноксалина.....	97
3.2.2 Производные 2-меркаптобензимидазола.....	101
3.2.3 Производные 11 <i>H</i> -2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола	104
3.2.4 Производные 1,4-дифенил-5 <i>H</i> -[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазола	113
3.2.5 Производные 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b- триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума	115
3.2.6 Производные 5 <i>H</i> -2,3-бензодиазепина	117
3.2.7 Производные 7 <i>H</i> -[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина.....	119
3.2.8 Заключение	122
3.3 Зависимость противотревожной активности изучаемых веществ от их структуры	126
3.3.1 Производные C ² ,C ³ -хиноксалина.....	127
3.3.2 Производные 2-меркаптобензимидазола.....	128
3.3.3 Производные 11 <i>H</i> -2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола	129
3.3.4 Производные 5 <i>H</i> -2,3-бензодиазепина	135
3.3.5 Производные 7 <i>H</i> -[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина.....	136
3.3.6 Заключение	137
3.4 Построение нейросетевой модели оценки анксиолитической активности.....	139
3.4.1 Формирование обучающей выборки для создания нейросетевой модели...	139
3.4.2 Нейросетевое моделирование	140
3.4.3 Консенсусный анализ чувствительности нейронов и определение биомишеней, наиболее значимых для формирования высокой анксиолитической активности соединений, релевантных хемотипам изучаемых производных бензимидазола и бензодиазепина	142
3.4.4 Построение мультитаргетных фармакофоров высокой анксиолитической активности изучаемых производных бензимидазола и бензодиазепина	143
3.4.5 Заключение	144
3.5 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	147
ГЛАВА 4. НЕЙРОПСИХОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 11<i>H</i>-[1,3]ДИАЗЕПИНО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА	150

4.1 Исследование нейропсихотропных эффектов соединения 11-(4- <i>трет</i> -бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола гидробромида (ДАБ-19).....	150
4.1.1 Анксиолитическая активность соединения ДАБ-19.....	150
4.1.1.1 Зависимость анксиолитической активности соединения от дозы	151
4.1.1.2 Длительность противотревожного действия соединения.....	154
4.1.1.3. Анксиолитическая активность соединения в тестах, основанных на наказуемом и ненаказуемом поведении.....	154
4.1.1.3.1 «Темная/светлая камера».....	154
4.1.1.3.2 «Наказуемое взятие воды по Vogel»	156
4.1.1.3.3 «Тревожно-фобическое состояние»	157
4.1.2 Оценка нейропсихотропного профиля соединения ДАБ-19	158
4.1.2.1 Поведенческая активность соединения в тесте «Открытое поле».....	159
4.1.2.2 Антидепрессивная активность соединения	159
4.1.2.3 Противосудорожная активность соединения	161
4.1.2.4 Гипногенное действия соединения	162
4.1.2.5 Анальгетическое действие соединения	163
4.1.2.6 Антикомпульсивное действие соединения.....	163
4.1.2.7 Влияние соединения на зоосоциальное поведение животных	164
4.1.2.8 Оценка когнитивных способностей крыс в острой эвристической ситуации под действием соединения	165
4.1.2.9 Миорелаксирующее действие соединения	166
4.1.3 Психотропные свойства соединения при 14-дневном введении.....	167
4.1.4 Анксиолитическая активность соединения на модели хронического непредсказуемого легкого стресса	170
4.1.5 Заключение	171
4.2 Исследование нейропсихотропных эффектов соединения 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2а]бензимидазола дигидрохлорида (ДАБ-21).....	172
4.2.1 Анксиолитическая активность соединения ДАБ-21.....	172

4.2.1.1	Зависимость анксиолитической активности соединения от дозы	173
4.2.1.2	Длительность противотревожного действия соединения	175
4.2.1.3	Анксиолитическая активность соединения в тестах, основанных на наказуемом и ненаказуемом поведении.....	175
4.2.1.3.1	«Темная/светлая камера».....	175
4.2.1.3.2	«Наказуемое взятие воды по Vogel»	177
4.2.1.3.3	«Тревожно-фобическое состояние»	178
4.2.2	Оценка нейропсихотропного профиля соединения ДАБ-21	179
4.2.2.1	Поведенческая активность соединения в тесте «Открытое поле».....	179
4.2.2.2	Антидепрессивная активность соединения	180
4.2.2.3	Противосудорожная активность соединения	181
4.2.2.4	Гипногенное действие соединения	182
4.2.2.5	Анальгетическое действие соединения	183
4.2.2.6	Антикомпульсивное действие соединения.....	183
4.2.2.7	Влияние соединения на зоосоциальное поведение животных	184
4.2.2.8	Оценка когнитивных способностей крыс в острой эвристической ситуации под действием соединения	185
4.2.2.9	Миорелаксирующее действие соединения.....	186
4.2.3	Психотропные свойства соединения при 14-дневном введении.....	186
4.2.4	Анксиолитическая активность соединения на модели хронического непредсказуемого легкого стресса	189
4.2.5	Заключение	190
4.2.5	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	191
ГЛАВА 5. МЕХАНИЗМЫ АНКСИОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 11<i>H</i>-[1,3]ДИАЗЕПИНО[1,2-<i>A</i>]БЕНЗИМИДАЗОЛА.....		
5.1.1	Прогноз возможных механизмов действия для производных 11 <i>H</i> -[1,3]дiazепино[1,2- <i>a</i>]бензимидазола	194
5.1.2	Заключение	200
5.2	Изучение анксиолитических механизмов действия соединения ДАБ-19.....	201

5.2.1 Взаимодействие соединения с лигандами нейромедиаторных систем <i>in vivo</i>	201
5.2.1.1 Оценка влияния флумазенила на эффекты соединения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»	202
5.2.1.2 Влияние соединения на эффекты пикротоксина	203
5.2.1.3 Действие соединения на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана	204
5.2.1.4 Влияние соединения на выраженность ареколинового тремора	205
5.2.1.5 Действие соединения на эффекты L-ДОФА	206
5.2.1.6 Влияние соединения на выраженность эффектов никотина	207
5.2.1.7 Оценка действия соединения на выраженность стереотипного поведения крыс, вызванного апоморфином	208
5.2.1.8 Изменение каталептогенного эффекта галоперидола при введении соединения	209
5.2.1.9 Изменение гипотермического эффекта клофелина при введении соединения	210
5.2.1.10 Действие соединения на эффекты резерпина	211
5.2.1.11 Оценка содержания моноаминов и их метаболитов в головном мозге мышей	212
5.2.1.12 Заключение	215
5.2.2 Влияние на различные рецепторные системы <i>in vitro</i>	216
5.2.2.1 Оценка 5-НТ _{2A} - β -аррестинового сиганлинга действия соединения	216
5.2.2.2 Глутаматергическое действие соединения	217
5.2.2.3 Активности соединения в отношении кальциевых каналов L-типа	222
5.2.2.4 Заключение	223
5.3 Изучение анксиолитических механизмов действия соединения ДАБ-21	223
5.3.1 Взаимодействие соединения с лигандами нейромедиаторных систем <i>in vivo</i>	223
5.3.1.1 Оценка влияния флумазенила на эффекты соединения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»	223

5.3.1.2 Влияние соединения на эффекты пикротоксина	225
5.3.1.3 Действие соединения на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана	225
5.3.1.4 Влияние соединения на выраженность ареколинового тремора	226
5.3.1.5 Действие соединения на эффекты L-ДОФА	227
5.3.1.6 Влияние соединения на выраженность эффектов никотина	228
5.3.1.7 Оценка действия соединения на выраженность стереотипного поведения крыс, вызванного апоморфином.....	229
5.3.1.8 Изменение каталептогенного эффекта галоперидола при введении соединения	229
5.3.1.9 Изменение гипотермического эффекта клофелина при введении соединения	230
5.3.1.10 Действие соединения на эффекты резерпина.....	231
5.3.1.11 Оценка содержания моноаминов и их метаболитов в головном мозге мышей.....	232
5.3.1.12 Заключение	235
5.3.2 Влияние соединения ДАБ-21 на различные рецепторные системы <i>in vitro</i>	236
5.3.2.1 Глутаматергическое действие соединения.....	236
5.3.2.2 Оценка 5-НТ2А- β - аррестинового сигналинга действия соединения	237
5.3.2.3 Активность соединения в отношении кальциевых каналов L-типа	238
5.3.2.4 Заключение	238
5.4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	239
ГЛАВА 6. ОЦЕНКА БЕЗВРЕДНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 11Н-[1,3]ДИАЗЕПИНО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА.....	241
6.1 Оценка токсичности соединения ДАБ-19.....	241
6.1.1 Оценка перспективности изучения соединения в системе прогноза ADMET	241
6.1.2 Оценка острой токсичности соединения	242
6.1.3 Нейротоксикологические параметры соединения.....	243
6.1.4 Аддиктивный потенциал соединения в тесте УРПМ.....	244

6.1.5 Заключение	244
6.2 Оценка токсичности соединения ДАБ-21.....	245
6.2.1 Оценка перспективности изучения соединения в системе прогноза ADMET	245
6.2.2 Оценка острой токсичности соединения	246
6.2.3 Нейротоксикологических параметры соединения.....	246
6.2.4 Аддиктивный потенциал соединения в тесте УРПМ.....	247
6.2.5 Заключение	247
6.3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	248
ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	249
ВЫВОДЫ.....	274
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	277
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	278
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	279
Приложение А (информационное).....	326

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Тревожные расстройства являются одними из наиболее распространенных нарушений психического здоровья в мире [Александровский, 2014; Kandola et al., 2020; Bahi et al., 2019]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, в 2015 году доля населения мира, подверженного тревожным заболеваниям, составляла 3,6%, а депрессии - 4,4% [Bahi and Dreyer, 2018]. Распространенность тревоги и депрессии значительно увеличилась в 2020 году по причине эпидемии COVID-19 [Salari et al., 2020]. Исследование структуры глобального бремени болезней показывает, что тревожные расстройства являются шестой по значимости причиной инвалидности во всем мире [Baxter et al., 2014]. Наиболее значимыми для клинической практики являются генерализованное тревожное расстройство, посттравматическое стрессовое расстройство, паническое расстройство [Carpenter et al., 2018; Freire et al., 2020; Арушанян, 2012], обсессивно-компульсивное расстройство, социальные фобии, тревожно-депрессивное расстройство [Kandola et al., 2020]. Классическим транквилизирующим препаратом, к числу которых относятся бензодиазепиновые производные - феназепам, диазепам, алпразолам и др. [Шабанов и др., 2016; Воронина и др., 2002; Середенин и др., 2021], свойственен высокий анксиолитический потенциал и адекватная скорость реализации противотревожного эффекта при широком терапевтическом индексе [Ладыженский и др., 2014; Александровский, 2014]. Тем не менее, для данных препаратов характерен значительный перечень побочных эффектов, среди которых психическая и физическая зависимость, нежелательная миорелаксация и седация [Тюренок и др., 2017; Петров и др., 2015; Ashton, 1994; Vaandrup et al., 2018].

Изостеризм является одной из стратегий в области медицинской химии для рационального конструирования новых лекарств на основе существующих соединений в ходе молекулярной модификации [Lima et al., 2005]. Изостером называется соединение, получаемое путем замены одного атома (группы атомов)

на другой атом (группу атомов), с сохранением биологической активности исходного соединения [Зефирова и др., 2002]. Базовый скаффолд соединения должен иметь известную химическую структуру и механизм действия, по возможности на уровне топографического взаимодействия фармакофорных групп с рецептором. Кроме того, пути метаболической инактивации, а также основные определяющие структурные факторы физико-химических свойств и побочные эффекты соединения-основы должны быть известны для прогнозирования используемого изостерического отношения [Burger, 1991]. Успех этой стратегии в разработке новых веществ привел к значительному росту числа представителей отдельных лекарственных классов, широко используемых в терапевтических инновациях, а также в качестве инструмента, полезного для молекулярной модификации. С помощью концепции изостеризма можно улучшить фармакологическую активность соединений, добиться селективности в отношении определенного рецептора или подтипа изоформы фермента с одновременным снижением определенных побочных эффектов или оптимизацией фармакокинетики соединений [Jayashree et al., 2022].

Актуальным и целесообразным представляется изучение фармакологических эффектов новых соединений. Таким образом, является перспективным изучение в ходе настоящего исследования анксиолитических свойств нового ряда изостеров бензимидазола и бензодиазепина с целью оценки перспективности разработки на их основе новых высокоэффективных противотревожных средств.

Степень разработанности темы

Концепция создания новых соединений на основе принципов изостеризма не теряет актуальности и на сегодняшний день [Cao et al., 2022; Vairoletti et al., 2022; Tu et al., 2022]. Бензодиазепиновый и бензимидазольный скаффолды характеризуются отчетливой анксиолитической активностью [Воронина и др., 2012].

В научно-исследовательском институте физической и органической химии Южного Федерального университета (г. Ростов-на-Дону) совместно с Северо-

Кавказским зональным научно-исследовательским ветеринарным институтом (г. Новочеркасск), а также ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко» (г. Донецк) были синтезированы изостеры бензимидазола и бензодиазепина - 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазолы, 2-меркаптобензимидазолы, 3,4,5,6-тетрагидро-2*a*,6*a*,10*b*-триазабензо[*a*]циклопента[*cd*]азулен-2*a*-иум бромиды, C²,C³-хиноксалины, 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепины, 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепины, 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазеино[5,4-*a*]бензимидазолы. Для настоящей работы были получены новые производные указанных скаффолдов и изучено их действие на центральную нервную систему лабораторных животных.

В Волгоградском государственном медицинском университете и Волгоградским медицинским научным центром была создана экспериментальная база для проведения исследований нейропсихотропных свойств новых рядов соединений различных химических классов [Тюренок и др., 2017; Петров и др., 2015]. Настоящая работа посвящена поиску среди широкого ряда изостеров бензимидазола и бензодиазепина высокоактивных соединений с противотревожной активностью, разработке наиболее активных из представленных веществ, а также возможного формирования практических рекомендаций по оптимизации существующих структур на основании полученных экспериментальных данных.

Цель исследования

Анксиолитические свойства нового класса химических соединений изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных, детализация механизмов действия, нейропсихотропных и токсических эффектов.

Задачи исследования

1. Оценить перспективность изучения выраженности противотревожной активности среди различных химических классов, являющихся изостерами бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов.

2. Провести поиск анксиолитической активности различных производных бензодиазепина и бензимидазола, используя технологии сетевой фармакологии и классической психофармакологии.
3. Выявить и обобщить зависимость проявляемого эффекта от структуры изучаемых соединений. Выделить наиболее активные классы для создания новых веществ с противотревожным действием.
4. Исследовать иные нейрпсихотропные эффекты соединений с наиболее высоким уровнем противотревожной активности. Определить развитие анксиолитического действия вещества в базисных поведенческих тестах и моделях для расширенного исследования преимущественной активности. Сформировать представление о нейрпсихотропном профиле сопутствующих психотропных эффектов.
5. Изучить механизмы анксиолитического действия наиболее активных производных бензодиазепина и бензимидазола.
6. Оценить безвредность соединений с определением острой токсичности субстанций и исследованием побочных эффектов.

Научная новизна

Впервые показана перспективность исследования изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов, по результатам которого выявлены новые химические классы с выраженным противотревожным действием.

Впервые проведен двухэтапный скрининг 81 новых соединений, оригинальных изостеров бензодиазепина и бензимидазола, на предмет наличия анксиолитической активности. Проведен анализ зависимости противотревожной активности от химического строения соединений. Установлены перспективные для дальнейших модификаций и поиска активных классов соединений, такие как 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазолы, 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепины, 5*H*-2,3-бензодиазепины и 2-меркаптобензимидазолы.

Выделен класс химических производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазолы, содержащий соединения с наиболее высокой активностью, для

которого впервые установлены психофармакологические эффекты. Определены особенности химических структур, вносящих наибольший вклад в выраженность анксиолитического действия: наличие пирролидинового или морфолиноэтильного фрагментов для производных диазепино[1,2-*a*]бензимидазола, амидная группа для производных циклопента[*cd*]азулениума, короткая углеродная цепочка (2 метильные группы) для бензодиазепиновых производных, содержащих триазоловый фрагмент.

Установлено, что соединение ДАБ-19 (11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола гидробромида) является конкурентным блокатором потенциал-зависимых NMDA рецепторов, аллостерическим модулятором кальций-непроницаемых и кальций-проницаемых AMPA рецепторов, оказывает положительное аллостерическое модулирующее действие на бензодиазепиновый сайт ГАМК_A рецептора, усиливает эффекты 5 гидрокситриптофана, обладает слабым α -адренергическим действием.

Выявлено, что действие соединения ДАБ-21 (11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола дигидрохлорида) связано с аллостерической модуляцией бензодиазепинового сайта ГАМК _{α 1/ β 3/ γ 2} рецептора, потенцированием серотонинергических эффектов, опосредуемых через 5-HT₂ серотониновые рецепторы, умеренным α ₂-адреноблокирующим действием, слабым глутаматергическим действием (блокированием NMDA и AMPA рецепторов).

Теоретическая и практическая значимость работы

Доказана целесообразность поиска веществ с анксиолитической активностью среди изостеров бензодиазепинового и бензимидазолового скаффолдов. Выявленные характерные элементы высокого уровня противотревожной активности могут быть использованы для улучшения виртуального конструирования, оптимизации и направленного синтеза соединений с изучаемым видом активности. Эффективность использования изостеризма при поиске противотревожных средств подтверждена выявлением

НОВЫХ ХИМИЧЕСКИХ КЛАССОВ И ВЕЩЕСТВ С ВЫРАЖЕННЫМ АНКСИОЛИТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ.

Определены перспективности поиска среди различных химических классов являющихся изостерами бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов. Установлен наиболее перспективный класс химических производных 11*H*-[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола. Создана нейросетевая модель поиска новых соединений с выраженным противотревожным действием. Найдены оригинальные психоактивные соединения, представляющие интерес для дальнейшего доклинического изучения 11-(4-трет-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола гидробромида (ДАБ-19) и 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола дигидрохлорида (ДАБ-21).

Установлено, что соединение ДАБ-19 – проявляет устойчивые анксиолитический и противосудорожный эффекты, обладает антиагрессивным действием.

Выявлено, что действие соединения ДАБ-21 – оказывает выраженное анксиолитическое и антидепрессивное действия, для него характерны антиагрессивный и анальгетический эффекты.

Доказана анксиолитическая активность наиболее перспективных веществ. Новые соединения ДАБ-21 и ДАБ-19 – представляют перспективную основу для проведения дальнейшего доклинического исследования с целью разработки веществ с анксиолитической и антидепрессивной, а также анксиолитической и противосудорожной активностями.

Методология и методы исследования

Методологическая основа для выполнения исследования соответствовала поставленным задачам и основывалась на технологической базе ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ, а также ГБУ ВМНЦ. Для прогнозирования эффектов и механизмов анксиолитического действия исследуемых химических классов и соединений использованы методы сетевой фармакологии. Исследования *in vivo* выполнены на нелинейных половозрелых мышьях-самцах и крысах-самцах. Среди

изостеров бензимидазола и бензодиазепина были изучены 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазолы, 2-меркаптобензимидазолы, 3,4,5,6-тетрагидро-2*a*,6*a*,10*b*-триазабензо[*a*]циклопента[*cd*]азулен-2*a*-иум бромиды, C²,C³-хиноксалины, 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепины, 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепины, 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазеино[5,4-*a*]бензимидазолы. Дизайн и методы исследования соответствуют рекомендациям [Миронов и др, 2012]. Статистическую обработку полученных данных проводили с применением теста Колмогорова-Смирнова с поправкой Делайла-Вилкоксона-Лилиефорса для малых выборок. Для парного сравнения при параметрическом распределении использовали *t*-критерий Стьюдента, при непараметрическом – *U*-критерий Манна-Уитни. В случае нормального распределения для множественных сравнений использовали one-way ANOVA с посттестом Даннета, в случае ненормального распределения данных – тест Краскелла-Уоллиса с посттестом Данна. Обработка экспериментальных данных проводилась с использованием ПО GraphPad Prism v.8.0, пакета Microsoft Excel 2010, Statistica v.7.0. Различия между группами считали значимыми при $p < 0,05$.

Реализация результатов исследования

Разработанная методология поиска и изучения соединений с потенциальной анксиолитической активностью внедрена в работу ГБУ ВМНЦ, включена в учебно-методический процесс на кафедрах фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, фармакологии и фармации Института НМФО ВолгГМУ, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Полученные данные о взаимосвязи структура-активность исследованных соединений используются в направленном синтезе новых химических структур в лаборатории органического синтеза НИИ физической и органической химии Южного федерального университета.

Исследования, изложенные в работе, частично финансированы Российским Фондом Фундаментальных Исследований № 20-015-00164 А (2020-2022) «Создание с применением методов молекулярного моделирования и искусственных нейронных сетей системной мультитаргетной модели

анксиолитической активности азотсодержащих гетероциклических соединений и поиск с ее использованием полифункциональных веществ с высокой анксиолитической активностью».

Положения, выносимые на защиту

1. Производные изостеров бензимидазолового и бензодиазепинового scaффолдов перспективное направление поиска веществ с высоким уровнем противотревожного действия.
2. 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазолы новый класс соединений проявляющим высокую анксиолитическую активность.
3. Соединение ДАБ-19 (11-(4-трет-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазола гидробромида) блокирует три типа глутаматергических каналов – NMDA, кальций-непроницаемые и кальций-проницаемые AMPA, а также проявляет анксиолитическое и противосудорожное действие.
4. Соединение под шифром ДАБ-21 (11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2*a*]бензимидазола дигидрохлорида) характеризуется выраженным бензодиазепиновым и серотонинергическим механизмами действия, а также проявляет анксиолитическое и антидепрессивное действие. Эффекты соединения сохраняются как при однодневном, так и при 14-дневном введениях, а также снижает агрессивное поведение животных.
5. Изученные соединения ДАБ-19 и ДАБ-21 являются малотоксичными и безопасными по совокупным данным уровня острой токсичности, нейротоксикологических тестов, тестирования по ADMET, а также изучения возможных побочных эффектов.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала с использованием современных методов и методологических подходов, соответствующих поставленным задачам. Сформулированные в диссертации выводы были

подкреплены экспериментальным материалом, литературными данными, корректностью статистической обработки полученных результатов.

Основные результаты диссертационной работы были представлены на научно-практических конференциях: ECNP Seminar in Neuropsychopharmacology (Волгоград, 2018); Съезд фармакологов России (Ярославль, 2018); 76-й открытой научно-практической конференции молодых ученых ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2018); Всероссийской конференции «MedChem Russia 2019» (Екатеринбург, 2019); 78-й международной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2020); XXV Региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области (Волгоград, 2021); 79-й международной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2021); 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «MedChem-Russia 2021» (Волгоград, 2021); XXVIII Symposium «Bioinformatics and Computer-Aided Drug Discovery» (Москва, 2022); VII Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 50-летию академической науки на УралеТехническая химия. От теории к практике (Екатеринбург, 2022); Международная научно-практическая конференция ТГМУ им. Абуали ибни Сино (68-ая годовщина) «Достижения и проблемы фундаментальной науки и клинической медицины», посвященной «Годам развития села, туризма и народных ремёсел (2019-2021)» (Ташкент, 2021); Неделя науки 2020: Международный молодёжный форум (Москва, 2020); VI Съезд фармакологов России (Москва, 2023).

По теме диссертации опубликовано 38 печатных работ, из них 21 в ведущих научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Получено 4 патента на изобретения РФ, 1 свидетельство о регистрации базы данных.

Личный вклад автора

Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном планировании исследования, постановке его цели и задач, разработке методологических подходов и прямом участии во всех этапах исследования. При написании диссертационной работы автором выполнен анализ отечественных и зарубежных источников литературы, сбор первичных данных, их статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и практических рекомендаций, оформление рукописи.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 347 страницах текста, содержит 38 таблиц, 77 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов и практических рекомендаций, списка литературы, включающего 397 наименований, в том числе 74 отечественных и 323 зарубежных источника, и приложения.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПРОБЛЕМЫ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ ТРЕВОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ

Тревожные расстройства являются одними из наиболее распространенных нарушений психического здоровья в мире [Александровский, 2014; Kandola et al., 2020; Bahi et al., 2019]. Глобальная распространенность тревожных расстройств колеблется от 3,8% до 25% популяции [Remes et al., 2016]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, в 2015 году доля населения мира, подверженного тревожным заболеваниям, составляла 3,6%, а депрессии - 4,4% [Bahi and Dreyer, 2018]. Общее количество людей с указанными патологиями увеличилось на 14,9% в 2005 году и на 18,4% в 2015 году [The Lancet, 2016]. Распространенность тревоги и депрессии значительно увеличилась в 2020 году по причине COVID-19 [Salari et al., 2020]. Около 70% людей с психическими расстройствами - трудоспособные лица обоего пола в возрасте 30–60 лет, что создает трудности для нормальной трудовой деятельности населения, а также для межличностной коммуникации [Ziebold et al., 2019]. Крупное популяционное исследование в США показало, что распространенность тревожных расстройств среди подростков в возрасте 13-19 лет в течение жизни составляет 31,9%, что делает их в два раза более распространенными, чем аффективные расстройства в той же выборке [Merikangas et al., 2010]. Исследование структуры глобального бремени болезней показывает, что тревожные расстройства являются шестой по значимости причиной инвалидности во всем мире [Baхter et al., 2014].

Известно, что тревога и страх являются эволюционными механизмами самозащиты и выживания, поэтому низкий уровень тревожности нельзя воспринимать как исключительно позитивное явление и необходимо помнить об опасности такого состояния [Малкова, 2014; Barlow et al., 2004]. В то же время, следует отличать фоновый уровень тревожности от патологической тревоги, к симптомам которой относятся раздражительность, напряженность и невозможность расслабиться, ухудшение памяти, нарушение засыпания и др. [Старостина, 2006]. Тревожные расстройства имеют динамический характер:

каждый год появляются новые формы тревоги и депрессии, дополняющие клиническую классификацию этих заболеваний [Reed et al., 2019].

Существует несколько подтипов тревожных расстройств, наиболее значимыми из которых для клинической практики являются генерализованное тревожное расстройство, посттравматическое стрессовое расстройство, паническое расстройство [Carpenter et al., 2018; Freire et al., 2020], обсессивно-компульсивное расстройство, социальные фобии, тревожно-депрессивное расстройство [Kandola et al., 2020]. Хотя тревога является центральной чертой всех подтипов, каждый из них сопровождается рядом других симптомов, которые могут серьезно повлиять на самочувствие и повседневную деятельность человека. Отличительными чертами клинической картины пациентов с данными патологиями являются постепенное снижение коммуникативных и когнитивных навыков [Nechita et al., 2018], а также нарушение мотивационной, двигательной и вегетативной сфер. Это влечёт за собой трудности как в профессиональной области, что может являться фактором экономической нестабильности [Ziebold et al., 2019], так и в межличностных отношениях, что может приводить к возникновению комплекса неполноценности [Zethraeus et al., 1962]. Наиболее часто тревожные расстройства сопровождаются поведенческой нестабильностью – немотивированной агрессией, гиперактивностью, инфантильностью – или же, наоборот, замкнутостью и склонностью к одиночеству [Craske et al., 2016].

Люди с тревожными расстройствами подвержены более высокому риску развития других психических расстройств, таких как депрессия [Kessler et al., 2008]. Тревога также, по-видимому, сопутствует некоторым хроническим соматическим заболеваниям. Например, у людей с тревожными расстройствами риск сердечно-сосудистых заболеваний повышен на 26-52% [Batelaan et al., 2016; Roest et al., 2010]. Соматические проявления тревоги очень разнообразны и включают хронические боли мышечного напряжения, сердечно-сосудистые и даже псевдоаллергические симптомы [Смирнов, 2010]. Имеются литературные данные [Gal Z. et al., 2019] об обратной связи хронического болевого синдрома и формированием тревожности, депрессии и нарушением сна: при коррекции таких

состояний необходимо комбинировать анальгетики и анксиолитики [Davari et al., 2020].

Тем не менее, на современном этапе активно продолжается поиск средств и методов лечения нервно-психических заболеваний. В 1981 году работа Закусова В. В. и его коллег по созданию эффективных препаратов для лечения сердечно-сосудистых и нервно-психических заболеваний была удостоена Государственной премии СССР в области науки и техники [Харкевич, 2003]. Александровским Ю. А. издана книга «Пограничные психические расстройства. Руководство для врачей», которая в 2021 году была переработана, дополнена и выпущена уже в пятом издании [Александровский, 2021].

Классическим транквилизирующим препаратам, к числу которых относятся бензодиазепиновые производные - феназепам, диазепам, алпразолам и др., свойственен высокий анксиолитический потенциал и адекватная скорость реализации противотревожного эффекта при широком терапевтическом индексе [Ладыженский и др., 2014]: именно поэтому многие из них используются в терапии тревожных патологий уже более 40 лет. Тем не менее, для данных препаратов характерен значительный перечень побочных эффектов, среди которых психическая и физическая зависимость, миорелаксация и седация. Применение указанной группы лекарственных средств ограничено для пациентов, чья профессиональная деятельность связана с повышенной концентрацией внимания и точностью движений. «Новые анксиолитики» по классификации Ворониной Т. А. и Середенина С. Б. [Воронина и др., 2002], к которым относятся частичные агонисты бензодиазепинового рецептора (абекарнил), эндогенные модуляторы ГАМК_A-бензодиазепинового рецепторного комплекса (эндозепины), агонисты ГАМК_B-рецепторного комплекса (фенибут), мембранные модуляторы ГАМК_A-бензодиазепинового рецепторного комплекса (афобазол), глутаматергические (кетамин) и серотонинергические анксиолитики (буспирон), в большинстве случаев характеризуются менее выраженными побочными действиями, но и менее активны при терапии фобических расстройств по сравнению с производными бензодиазепина [Teckchandani et al., 2023]. Для

лечения патологического стресса назначаются также и антидепрессанты, преимущественно группы СИОЗС - пароксетин [Nevels et al., 2016], эсциталопрам [Blumenthal et al., 2022], сертралин [Bernik et al., 2018], и СИОЗСН - венлафаксин [Saade et al., 2019] и дулоксетин [Dhaliwal et al., 2022], однако и они не лишены ряда нежелательных действий [Дробижев и др., 2013] – атипичные реакции, длительное развитие основного эффекта, либо его нивелирование (таблица 1.1).

Таблица 1.1 – Отечественные клинические рекомендации по лечению генерализованного тревожного расстройства [Российское общество психиатров, 2015-2022]

Препарат	Рекомендуемая суточная доза, мг	Уровень доказательности
Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС)		
<i>Пароксетин</i>	20-50	А
<i>Эсциталопрам</i>	10-20	А
<i>Сертралин</i>	50-150	А
Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (СИОЗСН)		
<i>Велафаксин</i>	75-225	А
<i>Дулоксетин</i>	60-120	А
Трициклические антидепрессанты		
<i>Анафранил</i>	75-200	А
Бензодиазепины		
<i>Диазепам</i>	5-15	А
<i>Лоразепам</i>	2-8	А
<i>Феназепам</i>	1-3	Б
Нейролептики		
<i>Кветиапин</i>	50-300	А
<i>Хлорпротексен</i>	30-150	Б
<i>Клозапин</i>	25-200	Б

Доказана эффективность кломипрамина, представителя группы трициклических антидепрессантов, в лечении обсессивно-компульсивного расстройства [Wilson et al., 2022]. Подтверждён анксиолитический эффект прегабалина и габапентина [Greenblatt et al., 2018]. Среди нейролептиков препаратами выбора являются кветиапин [Maneeton et al., 2016], клозапин [Pinar et al., 2015], хлорпротексен [Belinskaia et al., 2019]. Перечень основных российских клинических рекомендаций по лечению ГТР отражен в таблице 1.1.

Существуют различные подходы, связанные с разработкой новых соединений. Одним из таких подходов является концепция изостеров и биоизостеров Ганча [Зефирова и др., 2002]. Указанная концепция имеет много общего с определением потенциального соединения-лидера и его последующей оптимизацией [Зефирова и др., 2000]. Во многом такие подходы основаны на предварительном выборе класса, который способен проявлять выраженную фармакологическую активность. Такие классы основаны на определении, близком к понятию «привилегированные структуры» - субструктурные элементы, придающие желаемые (зачастую подобные лекарственным) свойства соединениям, содержащим эти элементы [DeSimone, 2004; Buckle, 2013].

Широкое многообразие препаратов и механизмов реализации их основного действия при лечении тревожных расстройств обусловлено биохимической сложностью и этиологической индивидуальностью патологического процесса [Bystritsky et al., 2013]. В настоящее время одной из стратегий лечения невротических расстройств является одновременное сбалансированное назначение транквилизаторов и антидепрессантов, что значительно повышает эффективность терапии [Murrrough et al., 2015]. Другим путем является создание новых полимодальных соединений, сочетающих указанные активности [Howland et al., 2015]. Современные доклинические разработки новых соединений с различной направленностью действия, отражающие тенденции развития лекарственного дизайна для лечения тревожных заболеваний, представлены далее.

Актуализированные подходы к поиску анксиолитических средств

Агонисты ГАМК-рецепторов. Гамма-аминомасляная кислота является основным тормозным медиатором ЦНС. Агонистами ГАМК являются производные бензодиазепина – диазепам, феназепам, мидазолам и др. С момента открытия подтипов бензодиазепиновых рецепторов в 1979 году поиск действенных анксиолитиков со сниженным перечнем побочных действий продолжается и сегодня [Ковалев, 1990; Сажин и др., 1993; Петров и др., 2015]. Клонирование и экспрессия ГАМК_A-рецепторов выявило несколько подтипов

рецепторов, основанных на вариации субъединичного состава. Особое внимание было уделено α -субъединицам, образующим ионный канал, поскольку было доказано, что данные субъединицы значительно влияют на фармакологическую активность анксиолитиков. Субъединица α_1 ассоциируется с седативным действием; это открытие привело к успешной разработке и развитию множества α_1 -селективных препаратов со снотворным эффектом, таких как нитразепам, лоразепам, оксазепам. Поскольку было доказано, что $\alpha_{2,3}$ -субъединицы ГАМК_A-рецептора связаны с проявлением анксиолитического эффекта, этот механизм до сих пор остается классическим для поиска новых субстанций с противотревожным действием [Trincavelli et al., 2012].

Так, в работе *Brito с соавт.* на различных поведенческих моделях изучалась анксиолитическая активность соединения LQFM032 - производного пиперазина [Brito et al., 2017]. Исследуемое вещество вводили мышам перорально в дозах 18-162 мкМ/кг. По результатам проведенных исследований авторами статьи было сделано заключение о вовлечении ГАМК-ергической системы в генез анксиолитического эффекта соединения LQFM032, поскольку это подтверждалось нивелированием действия вещества при совместном использовании с флумазенилом в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Помимо исследования антифобического действия соединения, авторы проводили эксперименты по изучению влияния вещества на когнитивные функции в тесте пассивного избегания со скополамином, поскольку анксиолитические эффекты классических агонистов бензодиазепинового сайта являются связанными с нежелательной антероградной амнезией. По данным нейротоксикологического исследования по S.Irwin, исследуемое вещество отличается низкой токсичностью (токсические эффекты развивались в дозе 875 мкМ/кг), что также является положительным фактором для позиционирования нового соединения. Среди производных пиперазина на сегодняшний момент на фармацевтическом рынке уже существует транквилизирующий препарат под названием «Атаракс» (гидроксизин), характеризующийся умеренной

анксиолитической активностью и применяемый для купирования различных тревожных состояний [Milenin et al., 2010].

Аллостерические модуляторы ГАМК_A-рецептора. В ГАМК_A-рецепторе существует целый ряд модуляторных сайтов, отличных от сайта связывания агониста. Различные соединения, действующие на эти сайты, повышают или, наоборот, снижают эффективность активации ГАМК_A-рецепторов агонистами. Бензодиазепиновый сайт является мишенью для ряда препаратов, используемых в клинической практике: антиконвульсантов, седативных и гипнотических средств [Olsen et al., 2018]. Активация бензодиазепинового сайта ведет к увеличению аффинности к агонисту у определенной группы ГАМК_A-рецепторов. Было показано, что токи хлорных ионов в гиппокампе, опосредованные низкоаффинными ГАМК-ергическими рецепторами, усиливаются бензодиазепинами в гораздо большей степени, нежели опосредованные высокоаффинными рецепторами [Sigel et al., 2018]. Такие различия ГАМК-ергических рецепторов могут быть объяснены различным составом входящих в них субъединиц. Данная теория подтверждается тем, что диазепам приводит к увеличению ГАМК-ергического ионного тока лишь при наличии γ_2 -субъединицы в ГАМК_A-рецепторах.

Другим сайтом аллостерической модуляции ГАМК_A-рецепторов является барбитуратный сайт. ГАМК_A-рецепторы, чувствительные к барбитуратам, более широко распространены в головном мозге, чем бензодиазепиновые [Olsen, 1981]. В отличие от бензодиазепинов, увеличивающих аффинность ГАМК-ергического рецептора к агонисту, барбитураты увеличивают время открытого состояния и проводимость каналов ГАМК-ергического рецептора. Кроме бензодиазепинов и барбитуратов, специфичным модулирующим действием на ГАМК_A-рецепторы отличаются нейростероиды и соли цинка [Семьянов и др., 2007].

Borghese с соавт. изучали новый селективный положительный аллостерический модулятор ГАМК_A-рецепторов DCUK-OEt, являющийся производным аминокинолина [Borghese et al., 2017]. Механизм действия данного соединения был подтвержден радиолигандным методом, также производился

поиск сайта связывания с помощью молекулярного моделирования. Авторами было отмечено, что наибольший антифобический эффект DCUK-OEt может быть вызван при взаимодействии соединения с рецепторами ГАМК, содержащими либо γ_2 , либо δ субъединицы вместе с α_1 и β_3 субъединицами; это комбинации субъединиц - $\alpha_1\beta_3\gamma_2$ и $\alpha_1\beta_3\delta$. Для соединения DCUK-OEt не было выявлено взаимодействий с другими рецепторами, транспортерами и ионными каналами.

Akbar с соавт. были открыты свойства флавоноидов как позитивных модуляторов ГАМК_A-рецепторов, к тому же лишенных побочных эффектов бензодиазепинов [Akbar et al., 2017]. По результатам радиолигандного исследования, молекулярный связующий сайт 6-MeOF отличается от других известных флавоноидных модуляторов ГАМК-рецепторов: он действует на γ -субъединицы, нечувствительные к антагонизму флумазенила, а, следовательно, 6-MeOF является перспективным соединением с анксиолитической активностью. Авторы анализируют химическую формулу изучаемого соединения и сообщают, что положение 6 ядра флавонов является активным даже без какой-либо замены и придает этой группе анксиолитические свойства, тогда как само ядро считается неактивным в отношении анксиолиза. Однако в недавних исследованиях установлено, что замена в положении 6 флавоноидного ядра приводит к увеличению анксиолитических свойств этой группы. Изучение активности вещества 6-MeOF проводилось на моделях *in vivo* антифобического действия при внутрибрюшинном введении, исследуемое вещество вводилось в дозах 10-100 мг/кг. Анксиолитический эффект был сопоставим с препаратом сравнения диазепамом (2 мг/кг) [Akbar et al., 2017]. Биораспределение 6-MeOF оценивали как в плазме, так и в коре головного мозга, и в миндалевидном теле.

Описанное в работе *Artelsmair с соавт.* соединение AZD7325, производное N-пропилциннолина, является высокоаффинным, селективным модулятором системы рецепторов ГАМК_A с дифференцированными связывающими и модулирующими свойствами, зависящими от конкретного подтипа ГАМК_A [Artelsmair et al., 2018]. Аффинность высока для ГАМК_A α_1 , α_2 и α_3 -субъединиц, но не для ГАМК_A α_5 , что ограничивает негативное влияние AZD7325 на когнитивные

функции. AZD7325 потенцировал эффект диазепама на α_2 и α_3 , но не на α_1 и α_5 -субъединицы, ограничивая его седативный эффект. Соединение действует как полный антагонист золпидема на уровне α_1 , что согласуется с отсутствием седативного эффекта. AZD7325 также потенцировал нативные ответы ГАМК в нейронах, полученных из префронтальной коры крыс, и продемонстрировал эффективность в ряде моделей тревоги *in vivo* [Artelsmair et al., 2018; Gu et al., 2018].

Изучаемое *Nickolls с соавт.* производное имидазопиридазина вещество PF-06372865 является положительным аллостерическим модулятором для ГАМК_A [Nickolls et al., 2018], проявляя селективность к α_2 , α_3 -субъединицам, ассоциированным с анальгетическим и противотревожным действием, и α_5 , ответственной за функционирование памяти. Однако, соединение не проявляет эффекта на α_1 -субъединицу, влияние на которую обуславливает седативный эффект.

Аллостерические модуляторы ГАМК_B-рецептора. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), главный ингибирующий нейротрансмиттер, опосредует свое действие через различные рецепторные системы, ионотропные и метаботропные рецепторы, ГАМК_{A/C} и ГАМК_B соответственно [Fritzius et al., 2019]. В то время как ГАМК_{A/C}-рецепторы образуют хлорные каналы и быстро опосредуют синаптическое ингибирование, рецептор ГАМК_B относится к белковому соединению рецептора GPCR, впоследствии взаимодействующим с гуанином, и, в зависимости от локализации, опосредующим пресинаптическое или медленное постсинаптическое ингибирование посредством модуляции Ca^{2+} и K^+ каналов [Frangaj et al., 2017]. Значительный прогресс в понимании физиологической роли ГАМК_B-рецептора и его место в патофизиологическом каскаде некоторых расстройств связана с его агонистом - баклофеном (β -хлорфенил-ГАМК) [Ghanavatian et al., 2020]. Введенный в клинику как миорелаксант центрального действия более четырех десятилетий назад, баклофен стал одним из основных лекарственных средств в терапии спастичности, а также состояний, характеризующихся значительным увеличением тонуса и ригидности мышц,

обычно наблюдаемых у пациентов с рассеянным склерозом или травмами спинного мозга. Однако баклофен характеризуется слабым проникновением через гематоэнцефалический барьер, коротким периодом действия и может вызывать различные побочные эффекты, включая седацию, головокружение, тошноту, мышечную слабость и спутанность мышления [George et al., 2020]. Эти ограничения исключают более широкое использование баклофена в коррекции множества других заболеваний, несмотря на его многообещающие эффекты в коррекции симптомов тревоги при ПТСР, панических атаках и синдроме отмены алкоголя [Larín, 2001, Drake et al., 2003].

Положительные аллостерические модуляторы рецептора ГАМК_B предлагают альтернативу прямым агонистам рецептора, поэтому представляют собой перспективный терапевтический подход для лечения расстройств, к которым баклофен не применим. В отличие от аллостерических агонистов, активирующих рецептор постоянно, действие положительного аллостерического модулятора включает повышение активности рецепторов только в синапсах, где высвобождается ГАМК. Положительная аллостерическая модуляция ГАМК_B-рецептора является многообещающей альтернативой прямым агонистам рецептора в качестве терапевтического подхода для лечения аддикции, хронической боли, тревоги, эпилепсии [Brown et al., 2015].

В статье *Kalinichev с соавт.* авторы приводят данные по изучению транквилизирующей активности соединения ADX71441, производного 2-фторфенилацетамида [Kalinichev et al., 2016]. Механизм действия вещества изучался с использованием клеток линии НЕК 293, и авторами делается заключение о связи ADX71441 с позитивным аллостерическим модулированием ГАМК_B-рецепторов. По результатам проведенных противотревожных тестов (0,3-3 мг/кг, *per os*), ADX71441 представляет собой соединение, перспективное для лечения тревожных состояний и обсессивно-компульсивного расстройства. К тому же, в исследованиях миорелаксирующей активности было установлено, что вещество не вызывает расслабления мышц даже в дозе 10 мг/кг.

В работе *Porcu с соавт.* исследовалась аффинность связывания производного пиримидина соединения SSD114 с ГАМК-рецепторами на препаратах мозга крыс [Porcu et al., 2016]. Молекула содержит центральное плоское шестичленное кольцо с заместителями различной полярности. Как предполагают авторы, вторичные амины могут быть ответственны за связывание водорода с рецептором, тогда как плоская ароматическая система может взаимодействовать с гидрофобным фрагментом рецептора. SSD114 проявляло фармакологическую активность как положительный аллостерический модулятор ГАМК_B. Было показано, что ГАМК-ергическое влияние изучаемого соединения полностью отменяется при применении антагониста ГАМК_B-рецепторов CGP54626. Также авторами было показано, что SSD114 ведет себя как специфический и селективный положительный аллостерический модулятор ГАМК_B *in vitro*. Увеличение концентрации SSD114 вызывало потенцирование стимулирующих эффектов, индуцированных ГАМК (1-20 мкМ), со значениями EC₅₀ в диапазоне низких микромолей. Более того, SSD114 усиливал ответные реакции ГАМК_B-рецепторов в моделях *in vivo* с баклофеном [Porcu et al., 2016]. На основании результатов данного эксперимента установлено, что предварительная обработка неэффективными дозами SSD114 синергически увеличивает седативный/гипнотический эффект субпороговой дозы баклофена. Все параметры, индуцированные баклофеном - седация и гипнотическое состояние, были заметно уменьшены предварительной обработкой SSD114. На основании приведенных данных можно считать, что SSD114 ведет себя как положительный аллостерический модулятор ГАМК_B в экспериментах *in vivo*.

Селективный ингибитор транспортера ГАМК GAT₁. В настоящее время существует ряд стратегий, позволяющих увеличить ГАМК-ергическую активность, включающих прямой агонизм для ГАМК-ергических рецепторов, ингибирование ГАМК, катаболизм или обратный захват ГАМК из синаптической щели. На сегодняшний день было обнаружено пять транспортных средств ГАМК (GAT), одним из которых является везикулярный транспортер ГАМК [Soudijn et al., 2000]. Другие четыре (GAT₁₋₄) являются мембранными белками,

принадлежащими семейству генов-носителей (SLC6A), Na⁺-независимых транспортеров [Schousboe et al., 2017]. В связи с их ключевой ролью в регуляции концентрации ГАМК в головном мозге, GAT, в частности GAT₁, стали перспективной мишенью для создания новых лекарственных средств для лечения заболеваний ЦНС [Fattorini et al., 2020].

Тиагабин представляет собой производное изоникотиновой кислоты, которая является высокоселективным ингибитором GAT₁ [Bresnahan et al., 2019]. Этот препарат блокирует обратный нейрональный захват ГАМК, что приводит к увеличению концентрации этого нейромедиатора в синаптической щели, увеличивающего ток ионов хлора через клеточные мембраны. В настоящее время тиагабин реализуется как вспомогательное средство при лечении тревожных расстройств.

Дофаминергическая система. В стрессовых ситуациях происходит активация дофаминергической иннервации и снижение уровня дофамина в миндалине. Дофаминовые рецепторы относятся к родопсиноподобным, аминергическим G-белковым рецепторам (GPCRs) и играют главенствующую роль в центральной нервной системе [Martinez et al., 2020]. Существует пять подтипов дофаминовых рецепторов, которые можно разделить на две группы: D₁-подобные (D₁ и D₅) и D₂-подобные (D₂, D₃ и D₄), в зависимости от активации или ингибирования вторичного мессенджера, циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) [Незнанов и др., 2017]. Описан как анксиогенный эффект лигандов дофаминовых рецепторов, в частности 2 подтипа, так и анксиолитический [Сюняков и др., 2011].

Rice с соавт. изучали соединение YQA-14, производное бензоксазола, новый селективный антагонист дофаминовых D₃-рецепторов [Rice et al., 2018]. Вещество представляется перспективным в отношении терапии ПТСР. В методиках *in vivo* соединение изучалось в дозах 3,12-12,5 мг/кг при внутрижелудочном введении. Исследователями была выбрана концепция выработки у животных длительного стресса (*Modified Single Prolonged Stress*) путем продолжительного совокупного применения нескольких поведенческих

тестов (вынужденное плавание, иммобилизационный стресс, выученная беспомощность). В результате было выяснено, что соединение YQA-14 значительно снижает проявления тревожно-депрессивного характера у исследуемых животных.

Серотонинергическая система. Серотонин играет важную роль в регуляции многих физиологических процессов, включая эмоции, циркадные ритмы, аппетит. Существует 7 семейств серотониновых рецепторов (5-НТ₁₋₇), реализующих различный фармакологический эффект [McCorvy et al., 2015]. Было выявлено, что анксиолитический эффект развивается при стимулировании 5-НТ_{2В} или блокировании 5-НТ_{2А}, 5-НТ₃ и 5-НТ_{5А}-рецепторов [Kim et al., 2020; Яковлев и др., 2015; Żmudzka et al., 2018]. Поэтому серотонинергическая система остается перспективной мишенью для создания новых транквилизаторов. Также, среди 5-НТ-рецепторов, подтип 5-НТ_{1А} имеет более глубокое влияние на контроль тревоги и депрессии, влияя на серотонинергическую нейротрансмиссию в нескольких областях мозга [Oliver et al., 2022]. В соответствии с широким терапевтическим потенциалом рецепторов 5-НТ_{1А} были разработаны различные препараты, наиболее известными из которых являются азапироны [Kishi et al., 2014]: буспирон и тандоспирон, используемые для коррекции тревоги, обеспечивающие неселективную и неаддитивную терапевтическую альтернативу использованию бензодиазепинов.

Была показана роль 5-НТ_{2С} рецептора в формировании тревожного поведения у грызунов [Heisler et al., 2007]. Применение антагониста 5-НТ_{2С} рецептора под шифром SB242084 приводило к развитию анксиолитического эффекта в ряде поведенческих тестов [Martin et al., 2002]. Под действием соединения S32212, обратного агониста 5-НТ_{2С} рецептора, зарегистрировано противотревожное действие в тесте конфликтной ситуации по Vogel [Dekeyne et al., 2012].

5-НТ₃-рецепторы являются пентамерными лиганд-ионными каналами, принадлежащими к суперсемейству CYS-петлевых рецепторов [Niesler et al., 2008]. Ряд доклинических исследований показал, что 5-НТ₃ антагонисты

рецептора играют значительную роль в лечении психических расстройств, таких как депрессия и тревога [Kurhe et al., 2014; Mahesh et al., 2013].

Согласно литературным источникам [Adriani et al., 2012; Jastrzębska-Więsek et al., 2014], активация рецепторов 5-HT₆ и/или 5-HT₇ может оказывать положительное влияние на эффективность и широту терапевтического спектра применяемых в настоящее время антидепрессантов. 5-HT₆ и 5-HT₇-рецепторы тесно связаны с цАМФ - системой вторичных мессенджеров аденилатциклазы - и широко распространены в кортиколимбических областях: полосатом теле, коре, обонятельном бугорке, прилежащем ядре (рецепторы 5-HT₆), гиппокампе, гипоталамусе и миндалине, участвующих в контроле настроения и эмоций [Kucwaj-Brysz et al., 2021].

В статье Brito с соавт. приводятся данные по изучению транквилизирующей активности соединения LQFM180, производного пиперазина [Brito et al., 2018]. В настоящее время для соединения с анксиолитической и антидепрессивной активностями показан полимодальный тип действия. Химическая структура LQFM180 содержит базовую часть производных пиперазина с центральной фармакологической активностью и бутилированный гидрокситолуол - соединение с выраженными антиоксидантными свойствами. Рациональность введения данного радикала обусловлена когнитивными нарушениями, связанными с окислительным стрессом. Авторами статьи была доказана вовлеченность серотонинергической системы в реализацию анксиолитического эффекта вещества при использовании фармакологических антагонистов - NAN-190 и PCPA. Таким образом, анксиолитическая активность LQFM180 развивается, в том числе, по серотонинергическому пути. Эксперименты *in vivo* проводились на антифобических моделях, животным каждой группы вводили изучаемое вещество перорально в дозах 9,4-75,2 мг/кг. Показатели группы соединения LQFM180 превышали данные группы препарата сравнения диазепама (5 мг/кг) в проведенных методиках (тест «Приподнятый крестообразный лабиринт», тест пассивного избегания со скополамином). Исследование антидепрессивной активности продолжилось с использованием

адреноблокаторов празозина и пропранолола, а также дофаминоблокаторов галоперидола и сульпирида, и РСРА и АМРТ для изучения моноаминов. Суммируя, антидепрессивная активность соединения LQFM180 включает серотонинергический, дофаминергический и норадренергический пути [Brito et al., 2018].

В работе *Pytka с соавт.* изложены результаты исследования производного 2-метоксифенилпиперазина под шифром НВК-17, для которого показан высокий аффинитет к 5-НТ_{1A} и 5-НТ₇ рецепторам [Pytka et al., 2018]. Противотревожная активность изучена на моделях «Четыре пластины» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Отмечено преимущественное влияние соединения на β-аррестинный путь 5-НТ_{1A} рецептора.

В исследовании *Kondej с соавт.* приводятся данные о новом производном хинолинона, соединении D2ААК1. Арилпиперазины и, в меньшей степени, арилпиперидины и арилтетрагидропиперидины были зарегистрированы как привилегированные структуры для аминергических рецепторов, сопряжённых с G-белком, в частности, серотонинового и дофаминового [Kondej et al., 2019]. Кроме того, арилтетрагидропиперидины известны как лиганды других мишеней, например, σ-рецепторов, а также активированных пролифераторами пероксисом рецепторов (PPAR, принадлежащие к семейству ядерных рецепторов), агонистов с антидиабетической активностью, и моноаминоксидазы В (МАО-В). Для соединения D2ААК1 показан политаргетный механизм действия: D₁-, D₃-, 5-НТ_{1A}- и 5-НТ_{2A}-рецепторный, обуславливающий антипсихотический и анксиолитический эффекты. Изучение антифобической активности *in vivo* проводилось в дозе 100 мг/кг внутривентриально, соединение достоверно повышало противотревожную активность [Kondej et al., 2019]. Результаты исследований на животных D2ААК1 показывают также, что для соединения характерны антипсихотические свойства, поскольку оно снижает гиперактивность, вызванную амфетамином, в модели на мышах, являющейся классическим тестом для потенциальных нейрорепетиков. Более того, D2ААК1

проявляет анксиолитические свойства, характерные для антипсихотиков второго поколения, таких как рисперидон и zipразидон [Hershenberg et al., 2014].

Khoury с соавт. описано соединение ADN-1184, являющееся производным арилсульфаниламида с 5-НТ_{6/5}-НТ_{7/5}-НТ_{2A}/D₂-рецепторной активностями [Khoury et al., 2018; Partyka et al., 2019]. В исследованиях *in vivo* авторами было доказано, что соединение в дозе 0,3 мг/кг проявляет статистически значимую анксиолитическую и антидепрессивную активности. Через 1 ч после введения вещества производилось измерение уровня серотонина и его метаболитов во фронтальной коре методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Изучаемое вещество не оказывало влияние на метаболизм серотонина во фронтальной коре.

Łażewska с соавт. изучали производное пиримидина AVN-492. В результате исследования 69 мишеней, включающих рецепторы, ионные каналы, транспортеры нейромедиаторов и ферменты, был сделан вывод о вовлечении 5-НТ₆-рецепторов в реализацию противотревожного эффекта [Łażewska et al., 2019]. Исследование зависимости структуры и активности совместно с молекулярным анализом подтвердило преимущественное взаимодействие с 5-НТ₇ для стерически обремененных заместителей в положении 2 арилоксильного фрагмента (изопропил, *трет*-бутил, циклопентил и фенил). Кроме того, замена пиперидинового фрагмента на 8-азабициклооктан (тропан) приводила к активации 5-НТ₇-лигандов и повышению селективности к рецепторам 5-НТ_{1A}. Наконец, авторами была подтверждена большая предпочтительность для интеракции с рецепторами 5-НТ₇ сульфонамидной группы, нежели для амидных и мочевиновых радикалов. Нейропсихотропная активность соединения изучалась *in vivo* после внутрижелудочного введения в дозах 0,05 и 0,2 мг/кг на анксиолитических и антидепрессивных моделях [Łażewska et al., 2019]. В результате исследования были установлены статистически значимые нейропсихотропные эффекты в дозах, меньших или сопоставимых с циталопрамом и диазепамом, использованных в качестве препаратов сравнения.

Группой исследователей *Słoczyńska с соавт.* открыто производное бензенсульфонамида PZ-1150 с 5-HT₇-антагонистическими свойствами, проявляющее антидепрессивный и анксиолитический эффекты [Słoczyńska et al., 2018]. Соединение F15599 впервые было описано *Assié с соавт.* в качестве агониста серотониновых рецепторов с наибольшей аффинностью к 5-HT_{1A}-подтипу [Assié et al., 2010]. Данному производному пиперидина свойственна антидепрессивная активность. Еще одним производным пиперидина, описанным *Jastrzbska-Wiesek et al.* является F13714. Эксперименты *in vivo* проводились на анксиолитических и антидепрессивных моделях [Jastrzębska-Więsek et al., 2017], и был отмечен анксиолитический потенциал изучаемого соединения.

В исследовании *Azevedo с соавт.* установлена анксиолитическая активность соединения АСН-000029, производного хиназолина, селективного агониста 5-HT_{1A} и 5-HT_{1D} и антагониста 5-HT_{2A}-серотониновых, а также антагониста α_{1A} , α_{1B} и α_{1D} -адренергических рецепторов, с хорошей селективностью к другим G-белок связанным рецепторам [Azevedo et al., 2019]. Продемонстрирована высокая степень проникновения через ГЭБ. Анксиолитический эффект наблюдали в моделях «Закапывания шариков» и «Темная/светлая камера» в диапазонах доз 8-32 мг/кг и 16-30 мг/кг. Антифобическая активность была сопоставима с наблюдаемой для ингибиторов обратного захвата серотонина (пароксетин и флуоксетин) и бензодиазепинов (алпразолам, диазепам и клобазам). На основании анализа экспрессии c-Fos в головном мозге после перорального введения АСН-000029 установлено, что эффект соединения тесно связан с областями обработки сигналов окружающей среды и тревожного поведения: миндалиной, паравентрикулярным ядром таламуса, паллидумом, ядром ложа конечной полоски и голубым пятном [Azevedo et al., 2019]. При исследовании безопасности АСН-000029 в функциональной аккумуляторной батарее до 50 мг/кг и в абстинентном тесте до 30 мг/кг дважды в день в течение 20 дней *in vivo* отклонений обнаружено не было.

В исследовании *Ferreira с соавт.* показан антагонизм соединения РААМНВА, производного фенилпропена, с 5-HT₁, 5-HT_{2A/2C} и 5-HT_{3A/3B}-

рецепторами [Ferreira et al., 2020]. Соединение вводилось взрослым особям рыб вида *Danio rerio* в дозах 4, 12 и 40 мг/кг внутривентрально, и его анксиолитическая активность была проявлена на моделях, тождественных моделям для грызунов: «Открытое поле» и «Темная/светлая камеры». Соединение является малотоксичным, а также уменьшает локомоцию *D. rerio in vivo*.

Группой ученых под руководством Faye исследован агонист 5-HT₄-подтипа серотониновых рецепторов под шифром RS67333, производное пиперидина [Faye et al., 2020]. Его противотревожная активность проявлена в ряде тестов *in vivo* в сравнении с диазепамом. Соединение вводили внутривентрально в дозе 1,5 мг/кг либо под медиальную префронтальную кору мышей в дозе 0,5 мг. Установлено, что активация 5-HT₄ на терминалах аксонов медиальной префронтальной коры, связанных с дорсальными ядрами шва, обуславливает развитие быстрого анксиолитического действия.

В статье Kurczab *с соавт.* установлены плеiotропные эффекты агонистов 5-HT₆-серотониновых рецепторов, соединений с 2-нафитильным заместителем (18 и 26), производных арилгидантоин-1,3,5-триазина - анксиолитический, антидепрессивный, метаболический [Kurczab et al., 2018]. Также авторами были отмечены, помимо серотонинергической, и другие активности для изучаемых субстанций. Соединения, содержащие галогеновые заместители (9, 10, 16, 17, 23, 24 и 30), были определены как наиболее активные против фермента MAO-A (IC₅₀: 6,25-37,24 мкМ). В результате изучения веществ на моделях *in vivo* был установлен пик нейротропного действия соединения 26 в дозе 3 мг/кг. Интерес исследователей привлекли соединения содержащие фенильный, 3-хлорфенильный и 3-метилфенильный заместители (9, 10 и 17), проявляющие умеренную анксиолитическую активность.

Аффинность арилпиперазин-гидантоинового производного MF-8 изучалась Latacz *с соавт.* на клеточной линии HEK293 *in vitro*, экспрессирующей 5-HT_{1A}-, 5-HT_{7B}- и D_{2L}-рецепторы [Latacz et al., 2018]. Наибольшее связывание наблюдалось с 5-HT₇-рецепторами. Результаты исследований молекулярного моделирования совместно с кристаллографическим анализом, обеспечили более глубокое

понимание лиганд-рецепторного взаимодействия. Молекулярно-динамическое моделирование подтвердило стабильность комплекса белок-лиганд. Авторы пришли к выводу о влиянии гидантоиновой части молекулы на проявление ее нейрорепродуктивных эффектов [Kucwaj-Brysz et al., 2018].

Ran с соавт. изучали производное пиперидина - YL-0919, частичного агониста 5-HT_{1A}-серотониновых рецепторов и селективного ингибитора обратного захвата серотонина [Ran et al., 2018]. Экспериментальная часть исследований проводилась на животных моделях тревоги и депрессии. Получены перспективные данные для дальнейшего изучения нейрорепродуктивного профиля вещества. К тому же, на крысах был проведен дендритный анализ, и было установлено увеличение под действием соединения YL-0919 образования дендритов по длине и числу в области гиппокампа. Таким образом, YL-0919 характеризуется терапевтическим потенциалом в отношении поведенческих расстройств, связанных с морфологической деструкцией дендритного волокна.

Bhatt с соавт. было описано производное хиноксалина 4-бензилпиперазин-1-ил)(3-метоксихиноксалин-2-ил метанол (6g) в качестве потенциального антагониста 5-HT₃-рецепторов [Bhatt et al., 2017]. Исследования проводились *in vivo* в дозе 5 мл/кг *per os* в течение 14 дней. Соединение проявляло умеренную активность, сопоставимую с препаратом сравнения пароксетином.

Ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО). Моноаминоксидаза представляет собой FAD-зависимую аминоксидазу, расположенную на наружной мембране митохондрий головного мозга, печени, слизистой оболочки кишечника и др., катализирующую окислительное дезаминирование биогенных аминов в альдегиды с радикальными и полярными нуклеофильными механизмами и выполняющую существенную физиологическую роль в центральной нервной системе и периферических органах [Edmondson et al., 2001]. Существует 2 изомера, MAO-A и MAO-B, которые кодируются различными генами и отличаются различной чувствительностью к избирательным ингибиторам [Tipton, 2018]. MAO-A предпочтительно катализирует окисление серотонина и норэпинефрина, тирамина и дофамина. Она играет важную роль в психических

расстройствах, таких как биполярная депрессия и атипичное поведение с повышенным стрессом [Schiele et al., 2020], в то время как МАО-В селективно катализирует окисление фенилэтиламина и бензиламина и участвует в нейродегенеративных процессах [Ramsay et al., 2016]. Надлежащее функционирование синаптических нейротрансмиттеров обусловлено быстротой разрушения биогенных аминов, имеющих критически важное значение для регулирования эмоционального поведения и других функций мозга. Нежелательное повышение в плазме концентрации МАО-субстратов и продуктов реакций может вызывать серьезные проблемы психического здоровья [Fowler et al., 2015]. В настоящее время существует большое количество препаратов-ингибиторов моноаминоксидазы. Выделяют неселективные ингибиторы МАО - ипрониазид, ниаламид, фенелзин, применяемые при различных панических и депрессивных состояниях, но гепатотоксичные [Kärkkäinen et al., 1992]. Среди селективных - обратимые ингибиторы МАО-А - моклобемид, пирлиндол, метралиндол, применяемые при терапии депрессивных и фобических расстройств [Silverstone, 1993]. А также необратимые ингибиторы МАО-Б - селегилин и разагилин, в основном применяемые в качестве противопаркинсонических средств, но, согласно литературным источникам, снижающие и различные тревожно-фобические состояния [Kasai et al., 2017].

Кос с соавт. изучили 28 новых производных пиразола, среди которых наиболее активными оказались соединения 3-(4-фторфенил)-5-(4-хлорфенил)-N-метил-4,5-дигидро-1H-пиразол-1-карботиоамид, 3-(4-фторфенил)-5-(4-бромфенил)-N-метил-4,5-дигидро-1H-пиразол-1-карботиоамид и 3-(4-фторфенил)-5-(4-бромфенил)-N-этил-4,5-дигидро-1H-пиразол-1-карботиоамид, обозначенные шифрами 9, 10 и 17 [Kos et al., 2014]. Активность в отношении моноаминоксидаз показана с помощью молекулярного докинга. Были проведены биохимические исследования по определению ингибирующей активности МАО-А и МАО-В для синтезированных соединений с использованием изоформ МАО печени крыс. Установлено, что соединения в основном селективно ингибируют фермент МАО-А, среди них соединение 9 является наиболее активным (IC₅₀: 6,25 мкМ).

Отмечено, что наличие атома галогена (Cl и Br) на фенильном кольце обуславливает заметно лучшую ингибирующую активность MAO-A. Тем не менее, ингибирующее свойство бромидзамещенных соединений заметно ниже, чем у хлорзамещенных, к тому же, у соединений с тиокарбамоильными заместителями также происходило снижение ингибирования MAO-A. Авторами была показана умеренная анксиолитическая и антидепрессивная активность веществ в тестах *in vivo* при интраперитонеальном введении в дозе 100 мг/кг [Koç et al., 2014].

Одним из направлений поиска являются производные 2-пиразолина, которым посвящен ряд публикаций [Tripathi et al., 2018, Upadhyay et al., 2017; Sharma et al., 2020]. Стоит отметить некоторые из них: PFC-1-16 - производные пиразолина, изучаемые Upadhyay с соавт. [Upadhyay et al., 2017]. Соединения 2-[5-(4-бензилоксифенил)-1-(4-хлорбензолсульфонил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил]-фенол (PFC-3) и 5-(4-бензилоксифенил)-1-(4-хлорбензолсульфонил)-3-(1H-пиррол-2-ил)-4,5-дигидро-1H-пиразол (PFC-12) были выбраны как наиболее активные среди всех синтезированных производных. Анализ химической структуры веществ показал, что замещение хлорбензолсульфонилем в положении N¹ благоприятно влияет на выраженность анксиолитического и антидепрессивного действия, замещение 2-гидроксифенилом в 3-й позиции и 4-бензилоксифенилом в 5-м положении пиразолинового ядра играет важную роль в развитии антидепрессивного эффекта соединения PFC-3, а присоединение гидрофобного радикала антрацен-9-ил в третьей позиции и замещение метилфенилом в 5-м положении увеличило анксиолитическую активность соединения PFC-12. Вещества демонстрировали значительную противотревожную и антидепрессивную активность на различных поведенческих моделях *in vivo*. Результаты дозозависимых фармакологических исследований показали, что синтезированные производные 1,3,5-тризамещенные-2-пиразолина имеют широкий диапазон анксиолитической и антидепрессивной активностей. В более поздних работах [Tripathi et al., 2018] среди другой группы производных отмечают, что полярное замещение 4-гидроксифенильной группы при в C³

положении (4-[1-(4-хлорбензолсульфонил)-5-(4-хлорфенил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил]-фенол, шифр соединения 5b) является важным фактором формирования анксиолитической активности, в то время как замена нафталин-1-ила в том же положении и 2-фурана в С⁵ положении в большей степени характерно для антидепрессивной активности. Также как и в более ранних работах авторы на основании *in silico* методов предполагают MAO-A ингибирующее действие для наиболее активных веществ.

Ингибиторы транслокаторного протеина TSPO (18kDa). Транслокаторный белок TSPO (18 кДа), ранее называемый периферическим бензодиазепиновым рецептором (PBR), в последние годы активно изучается в патофизиологии посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) [Shang et al., 2020], поскольку отличается нейростероидным эффектом, утверждая гипотезу о том, что для селективных лигандов TSPO свойственен потенциал в лечении ПТСР. Транслокаторный белок располагается между наружной и внутренней митохондриальными мембранами. Функция данного протеина связана с переносом холестерина и участием в стероидогенезе [Rone et al., 2009; Natile et al., 2016]. Есть данные, подтверждающие связь экспрессии TSPO и психических расстройств [Arbo et al., 2015]. Стероидные гормоны модулируют экспрессию TSPO и их активность в нейронах. При невропатологических состояниях (инсульт, болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона, множественный склероз и боковой амиотрофический склероз, травме, воспалении) экспрессия TSPO усилена в реактивной микроглии и астроцитах [Adhikari et al., 2022]. Поэтому лиганды TSPO обычно рассматривают как чувствительные биомаркеры визуализации головного мозга для какого-либо нейроочага поражения. Лиганды TSPO характеризуются анксиолитическим и антидепрессивным эффектом без очевидных побочных действий обычных бензодиазепинов [Gudasheva et al., 2020]. К представителям данного класса относятся бензодиазепиновые соединения, например, Ro5-4864 (4-хлородиазепам), применяемый для лечения психоподобных нарушений, эффективный также в отношении патологий, связанных с миелиновой дегенерацией [Palzur et al., 2016]. Другим лекарственным

препаратом из группы ингибиторов TSPO является эмапунил - производное оксопурина [Crombie et al., 2021]. Благодаря эффективному стимулированию производства нейростероидов, таких как прегненолон, на сегодняшний день эмапунил является эффективным и быстродействующим анксиолитическим препаратом [Ким и др., 2016]. В этом направлении также выделяется поиск среди дипептидных производных. Так GD-102 (N-фенилпропионил-1-триптофанил-1-лейцинамид) в диапазоне доз 0,01–0,5 мг/кг внутривенно обладает выраженной анксиолитической активностью. Показано, что L,D-диастереомер GD-102 не обладает активностью, а D,L-изомер обладает менее выраженной активностью. Анксиолитическая активность также исчезает при замене С-амидной группы на метиловый эфир, свободную карбоксильную группу или метиламид. Последовательная замена каждого аминокислотного остатка на глицин показала важность каждого из аминокислотных остатков в структуре лиганда [Gudasheva et al., 2020].

Глутаматные рецепторы. Глутаминовая кислота является нейромедиаторной аминокислотой, одной из важнейших представительниц класса «возбуждающих аминокислот» [Miller et al., 2020]. Связывание глутамата со специфическими рецепторами нейронов приводит к возбуждению последних. Для нормального функционирования ЦНС необходимо правильное соотношение активности тормозящей ГАМК-ергической и возбуждающей глутаматергической систем [Петров и др., 2014]. Гиперактивация глутаматергической системы может приводить к тревожным расстройствам, поэтому остается актуальным поиск новых веществ, влияющих на ионотропные и метаботропные глутаматные рецепторы. Отрицательные аллостерические модуляторы (ОАМ) метаботропного глутаматного рецептора 5 (mGluR₅) рассматриваются как потенциальная фармакотерапия для ряда психических заболеваний, включая тревогу и депрессию [Sartori et al., 2019]. Метаботропные глутаматные рецепторы (mGluRs) составляют класс С рецепторов, связанных с G-белком (GPCR), и выполняют ключевую роль в глутаматергической сигнализации [Перфилова и др., 2020]. Этот класс (GPCRs) состоит из трех подклассов, включая группы I (mGluR₁ и mGluR₅), II (mGluR₂ и

mGluR₃) и III (mGluR₄, mGluR₆, mGluR₇, и mGluR₈) [Zoicas et al., 2019]. Группа I mGluRs соединена Gq и расположена, главным образом, постсинаптически, их активация увеличивает NMDA-рецепторную активность и возбудимость нейронов. Ингибирование mGluR₅, в основном выраженных в полосатом теле, гиппокампе, миндалине и лобной коре, считается потенциальным терапевтическим подходом для лечения ряда психических заболеваний – тревожных и депрессивных расстройств [Tu et al., 2019]. В связи с косвенным усилением NMDA активности, активаторы mGluR₅ могут быть эффективными при различных фобиях, наркомании, шизофрении и когнитивных нарушениях [Тюренков и др., 2018]. Поскольку сайт ортостерического глутамата является высококонсервативным для всех mGluRs, большинство программ обнаружения направлены к аллостерическим модуляторам, которые селективны не только между, но и внутри подклассов [Harvey et al., 2012]. В случае mGluR₅, эти подходы дают разные хемотипы как отрицательные и позитивные аллостерические модуляторы (ОАМ и положительный аллостерический модулятор). Ранее изученные ОАМ mGluR₅ с химической точки зрения представляют собой стержнеобразные соединения, в которых концевые кольца обычно соединялись ацетиленовой группой.

Galambos с соавт. описывается пошаговый синтез группы производных 4-фенил-3-арилсульфохинолинов, основными этапами которого являлись стабилизация и оптимизация хинолиновых ядер введением фторированных и хлорпроизводных заместителей в положении 1 и метокси-групп в положениях 3 и 4 [Galambos et al., 2017]. Авторы приводят расчеты докинга, показавшие, что вещество-лидер - соединение под шифром 25 {1-[7-хлор-3-[(3-хлорфенил)сульфонил]хинолин-4-ил]пиперидин-4-ил)метанол} отличается высоким сродством к аллостерическому сайту связывания нативных (крысиных и человеческих), а также рекомбинантных (человеческих) рецепторов mGluR₅ и проявляет >50-кратную селективность по сравнению с нативными рецепторами mGluR₁. В анксиолитических моделях *in vivo* соединение 25 было исследовано в диапазоне доз 0,5–10 мг/кг при пероральном способе введения. Было показано,

что для вещества характерно развитие антифобического действия даже в высоких концентрациях, не сопровождающееся побочными эффектами. Также противотревожная активность соединения 25 была продемонстрирована в ультразвуковом тесте (УТ) вокализации и контекстуальном тесте страха (*fear conditioning*). В УТ вещество значительно и дозозависимо снижало ультразвуковую вокализацию, а в контекстуальном тесте страха соединение 25 значительно и дозозависимо уменьшало число замираний исследуемых животных [Galambos et al., 2017].

Опиоидные рецепторы. К, μ и δ -опиоидные рецепторы, принадлежащие к подсемейству родопсинов семейства GPCR, широко распространены во всей центральной и периферической нервной системе [Nazeri et al., 2019]. Помимо модуляции боли и аддикции, эти опиоидные рецепторы и их эндогенные опиоидные пептиды также вовлечены в регулирование эмоциональных состояний [Anderson et al., 2020]. На основании исследований с использованием агонистов δ -рецепторов показано, что активация δ -рецептора вызывает анксиолитические и антидепрессивные эффекты [Nagase et al., 2020]. Роль μ -рецептора в генерации настроения является парадоксальной, поскольку фармакологическая активация рецептора μ продуцирует антидепрессивное поведение у грызунов, тогда у как мышей с μ -рецепторным нокаутом выявили антидепрессивные и анксиолитические эффекты [Faouzi et al., 2020]. Также, κ -рецептор и его эндогенный лиганд динорфин участвуют в регуляции эмоций [Hang et al., 2015]. Было показано, что κ -рецептор индуцирует анксиогенные/анксиолитические, депрессивные/антидепрессивные эффекты у животных в разных поведенческих моделях, тогда как антагонисты κ -рецепторов показывают последовательные анксиолитические и антидепрессивные эффекты [Anand et al., 2018]. К тому же, по некоторым данным, была продемонстрирована перспективность комбинации κ/μ опиоидов для регулирования эмоций и лечения наркомании [Hassan et al., 2017].

В ряде работ было изучено соединение (6R,6aS,14aR)-17-метил-5,6,7,14-тетрагидро-6aH-6,14a-(эпиминоэтанонафто[2,1-b]акридин-2,6a-диол (KNT-127) -

производное нафтоакридина [Nagase H. et al., 2010]. В результате изучения взаимодействия вещества с антагонистом δ -опиоидного рецептора налтриндолом, авторы делают предположение об агонистическом действии KNT-127 на δ -рецептор [Yamada et al., 2019]. В тестах *in vivo* вещество вводилось в базолатеральную миндалину посредством инъекционной канюли. Авторами подчеркнуты выраженные анксиолитические свойства KNT-127, к тому же, эффекты изучаемого вещества сходны с таковыми для диазепама при отсутствии побочных эффектов бензодиазепиновых анксиолитиков (седация, миорелаксация) [Kawaminami A. et al., 2022].

Ингибиторы TRPC₄ и TRPC₅. Ионные каналы транзиторного рецепторного потенциала (*Transient receptor potential channels*) в большом количестве присутствуют в головном мозге, особенно в коре и миндалине, где они регулируют передачу сенсорных сигналов. По ряду литературных источников, роль TRPC₄ и TRPC₅ связана с поведенческими изменениями и чувством страха [Just et al., 2018; Minard et al., 2018]. Стимуляция G- α -q-G-белковых рецепторов (GPCRs) индуцирует токи TRPC₄ и TRPC₅ в гетерологичных экспрессионных системах, что считается физиологически значимым фактором для активации каналов, так как стимуляция G- α -q-связанных GPCRs рецепторов коррелирует с атипичным и тревожным поведением [Yang et al., 2015]. Комбинированным GPCR G- α -i/o также свойственна способность к активации TRPC₄, возможно, даже более выражено, чем G- α -q [Kárpáti et al., 2019]. Таким образом, эти каналы являются преобразователями еще более широкого спектра сигналов. К тому же, согласно данным литературы, генетическая делеция TRPC₄ или TRPC₅ снижает тревожное поведение у лабораторных животных [Minard et al., 2018].

Just с соавт. изучали производное ксантина - 8-(3-хлорфенокси)-7-[(4-хлорфенил)метил]-1-(3-гидроксипропил)-3-метилпурин-2,6-дион (НС-070) - ингибитор рекомбинантных гомомультиметров TRPC₄ и TRPC₅ в гетерологичных экспрессионных системах с наномолярной активностью, чей механизм действия был доказан электрофизиологическими и флуориметрическими методами [Just et

al., 2018]. HC-070 ингибирует гетеромультимеры TRPC_{1/5} и TRPC_{1/4} с аналогичной эффективностью и уменьшает ответы, вызываемые тетрапептидом холецистокинина (ССК-4) в миндалине. По результатам тестов *in vivo* HC-070 (1-3 мг/кг, *per os*), авторы делают заключение о снижении тревожного поведения без влияния на локомоторную активность в сравнении с диазепамом (1,5 мг/кг), а также об антидепрессивной активности соединения HC-070.

Yang с соавт. исследовали соединение н-бутил-1h-бензимидазол-2-амин (M084) - производное бензимидазола, потенциальный ингибитор TRPC₄ и TRPC₅ [Yang et al., 2015]. В тестах *in vivo* (2-40 мг/кг, интраперитонеально) оно оказывает анксиолитический и антидепрессивный эффект и является перспективным для дальнейшего изучения психотропной активности.

Другие рецепторы и ионные каналы. Разумеется, на сегодняшний день известно множество нейрпсихотропных мишеней, воздействуя на которые агонистически или антагонистически можно влиять на тревожно-фобическое состояние человека [Gribel et al., 2013], однако, с каждым годом исследуются и новые механизмы - потенциальные посредники коррекции эмоционального статуса. Например, с момента открытия накапливается все больше доказательств, подтверждающих роль центральных гистаминовых H₃-рецепторов в функционировании мозга, а именно - познании, эмоциях, стрессе [Кудряшов и др., 2019; Alachkar et al., 2019]. Гистаминовые рецепторы ЦНС вовлечены в патогенез тревожности и депрессии, в литературных источниках встречаются исследования, указывающие на функциональную связь между тревожностью и гистаминергической нейромедиацией на классических анксиолитических моделях *in vivo*: H₁-антагонист хлорфенамин снижал тревожность у крыс [Bahi et al., 2014]. Изучается и анксиолитическая активность соединений, опосредованная, например, ингибированием потенциалзависимых натриевых каналов. Приведенные системы - далеко не полный перечень целевых мишеней в терапии тревожных расстройств.

Соединение ST-1283 является производным пиридина и рассматривается в качестве антагониста H₃-гистаминового рецептора [Bahi et al., 2014]. В

экспериментах *in vivo* авторами была доказана его анксиолитическая и антидепрессивная активность (7,5 мг/кг, интраперитонеально). Было показано, что вещество не влияет на локомоторную активность исследуемых животных.

Pastore с соавт. изучали фармакологическую активность соединений N-пропил-2,2-дифенил-2-гидроксиацетамидов, среди которых было выбрано соединение 5, изученное на предмет нейropsychотропной активности [Pastore et al., 2018]. Посредством электрофизиологических и радиолигандных исследований было выяснено, что механизм анксиолитического действия соединения N-пропил-2,2-дифенил-2-гидроксиацетамид (5) не связан с ГАМК- или 5-HT-рецепторами. Авторами была выдвинута гипотеза об ингибировании веществом потенциалзависимых натриевых каналов. Для подтверждения своей теории авторы использовали культуру клеток НЕК293 с применением методики patch-clamp. При изучении фармакологической активности *in vivo* соединение 5 (10 мг/кг, интраперитонеально) проявило выраженное антифобическое и антидепрессивное действие без изменения локомоторной активности экспериментальных животных.

В работах *Huang с соавт.* описан новый ингибитор фосфодиэстеразы 9 типа, производное пиримидина, где при введении в положение R¹ циклопентильной группы, она имеет лучшее сродство к фосфодиэстеразе 9A, чем изопропиловая, изобутильная или хлорфенильная группа. Замена метоксильной группы на фтор в положении R³ приводила к аналогичному сродству ингибиторов. Среди исследованных соединений, WYQ-C36D показало наилучшую эффективность в отношении каталитического домена фосфодиэстеразы 9A. Этому улучшению аффинности, в основном, способствует циклопентильная группа. Соединение WYQ-C36D проявило *in vivo* антидепрессивный, анксиолитический, позитивный мнестический эффекты в дозах 0,1, 0,5 и 1 мг/кг [Huang et al., 2018]. На клеточной линии HT-22 соединение оказывало протективный эффект в условиях цитотоксичности, индуцированной кортикостероном.

Zhu с соавт. изучали влияние соединения N-(2-карбоксиацетил)-d-валин-метиловый эфир (Zlc-002) на связывание nNOS-CAPON [Li et al., 2017]. Ранее

было показано, что взаимодействие nNOS-CAPON в гиппокампе проявляется анксиогенным эффектом, в то время как ингибирование этой интеракции ведет к анксиолизису. Zlc-002 в дозах 40 и 80 мг/кг при 14 дневном введении оказывало противотревожное действие в тестах «Открытого поля», «Приподнятого крестообразного лабиринта», «Питания в новой обстановке» и «Темной/светлой камеры» [Zhu et al., 2020].

Как показано ранее, мишень-ориентированный подход в создании новых лекарственных средств, как и первоочередное определение преимущественного механизма действия соединений, является одним из классических в современной фармакологии. В то же время, эффект-ориентированный подход, основанный на преимущественном определении фармакологических активностей соединений без предварительных исследований механизма действия, имеет место в разработках активных фармацевтических субстанций и на сегодняшний день.

Так, в работе *Paronikyan с соавт.* описан синтез 8-гидразинопроизводных пирано[3,4-с]пиридинов и 3-тиоксопирано[3,4-с][1,2,4]триазоло[4,3-а]пиридинов и оценена их нейротропная активность *in vivo* [Paronikyan et al., 2019]. Среди всех соединений, протестированных на противосудорожную активность с помощью тестов «Коразоловые судороги» и «Максимальный электрошок», шесть соединений оказались активными. Эти соединения также оценивали на их анксиолитическую и антидепрессивную активности с использованием тестов «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Принудительное плавание по Porsolt». Следует отметить, что соединения, испытанные методом «Ротарод», не характеризовались миорелаксацией. Наличие N,N-дифенилацетамидного заместителя у атома серы 1,2,4-триазола, а также 5-фениламиногруппы дигидропиранотриазолопиридинового фрагмента (5g) оказывают наиболее выраженное анксиолитическое действие. Докинг наиболее активных соединений показал их аффинность к рецепторам ГАМК, SERT и 5-HT_{1A}.

Целью исследования *Pańczyk с соавт.* была оценка анксиолитической, антидепрессивной, противосудорожной и анальгезирующей активностей в ряду

группы новых производных N-(феноксипалкил)- или N-{2-[2-(фенокси)этокси]этил}пиперазина [Pańczyk et al., 2018]. Соединения оценивали на мышах при внутрибрюшинном введении в тестах «Принудительное плавание по Porsolt», «Четыре пластины», «Максимальный электрошок» и «Ротарод». Два соединения также оценивали на анальгетическую активность в моделях нейропатической боли (стрептозоциновый тест, оксалиплатиновый тест), и в дозе 30 мг/кг они оказались активными против диабетической нейропатической боли. Было также оценено их сродство к рецепторам 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇, D₂ и α_1 методами молекулярного моделирования.

В статье *Kędzińska с соавт.* изучена анксиолитическая активность двух новых производных арилпиперазина: соединения 4p-N-(3-(4-(пиперонил)пиперазин-1-ил)пропил)изоникотинамид и 3o-N-(2-(4-(пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил))этил)пиколинамид [Kędzińska et al., 2019]. Кроме того, соединения были изучены в условиях взаимодействия с буспироном (1 мг/кг), диазепамом (0,25 мг/кг), WAY 100635 (0,1 мг/кг) и флумазенилом (10 мг/кг) в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». По результатам тестирования сделан вывод о возможной механизации действия новых соединений, наиболее вероятными из которых является 5-HT_{1A} и 5-HT_{2C} антагонистические эффекты.

В работе *Amaghnoúje с соавт.* описан синтез нового производного диазепина, 4-(4-метоксифенил)-2,3,4,5-тетрагидро-2,3-бензодиазепин-1-она (VBZ102) [Amaghnoúje et al., 2021], и оценка его анксиолитического действия в «Открытом поле», «Темной/светлой камере» и «Распознавании нового объекта» при пероральном введении, а также оценена токсичность соединения и его дозозависимые эффекты. Хотя бензодиазепиновая природа соединения известна, непосредственные исследования механизма действия не проводились.

Sirakanyan с соавт. в результате многостадийных реакций получили 26 новых пятичленных гетероциклических систем: пиридофуоро[3,2-d]пирроло[1,2-a]пиримидины, пиридофуоро[3,2-d]пиридо[1,2-a]пиримидины и пиридофуоро[3',2':4,5]пиримидо[1,2-a]азепины [Sirakanyan et al., 2021]. Вновь

синтезированные вещества основаны на более ранних исследованиях фууро[3,2-d]пирроло[1,2-а]пиримидинов и фууро[3',2':4,5]пиримидо[1,2-а]азепинов [Sirakanyan et al., 2016]. PASS-прогнозирование противосудорожной активности выполняли для всего набора сконструированных молекул. Биологические тесты свидетельствуют, что некоторые из исследованных соединений проявляли высокую противосудорожную активность за счет антагонизма с пентилентетразолом. По данным исследования психотропной активности установлено, что соединения обладают активирующим и анксиолитическим действием на моделях «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Докинг показал, что соединение 5-Бутил-2,2-диметил-1,4,10,11,12,13-гексагидро-2Н,8Н-пирано[4,3:4,5]пиридо[3,2:4,5]фууро[3,2-d]пиридо[1,2-а]пиримидин-8-он (6к) прочно связывается в активном центре ГАМК-рецептора со значением функции, равной $-7,95$ ккал/моль, в то время как соединение 6п показало наилучшее связывание *in silico* как двойной ингибитор транспортера SERT, а также рецептора 5-HT_{1A}.

Исследование *da Silva P. R. с соавт.* направлено на оценку анксиолитического и антидепрессантного потенциала монотерпенового тетрагидролиналоола в моделях *in vivo* и обзор фармакологических мишеней методами молекулярного докинга [da Silva P. R. et al., 2022]. В анализе молекулярного докинга тетрагидролиналоол показал удовлетворительные значения энергии связывания с nNOs, SGC, IL-6, 5-HT_{1A}, NMDA и D₁ - рецепторами.

Фенилпропаноиды были изучены в ходе психофармакологических исследований с целью обнаружения новых молекул с антидепрессантной и анксиолитической активностью [da Silva C. P. et al., 2021]. Исследование молекулярного моделирования *in silico*, основанное на гомологии, было проведено для определения трехмерной структуры рецептора 5-HT_{2A}, затем изучена предрасположенность к риску цитотоксичности среди идентифицированных молекул.

В исследовании *Narasingam с соавт.* представлены анксиолитические и антидепрессивные эффекты метанольного экстракта Моринды цитрусолистной (*Morinda citrifolia Linn*) [Narasingam et al., 2017]. Экстракт (1 г/кг, перорально) значительно ослаблял тревожноподобное поведение у мышей, увеличивая процент времени, проведенного в открытых рукавах «Приподнятого крестообразного лабиринта» и значительно улучшая поведение в «Темной/светлой камере». Флумазенил (6 мг/кг), бикикуллин (3 мг/кг) или соединение WAY 100635 (антагонист 5-HT_{1A} рецептора, агонист D₄ рецептора, 1 мг/кг) нивелировало анксиолитический эффект, вызванный экстрактом. Эти результаты предполагают возможное участие бензодиазепин-ГАМК-ергических и серотонинергических механизмов в анксиолитическом эффекте.

В работе *Santana с соавт.* соединения LQFM211, LQFM213 и LQFM214 были созданы на основе пиперазинового каркаса и вводились мышам перорально [Santana et al., 2022]. Позже эффекты оценивали в «Открытом поле», в «Приподнятом крестообразном лабиринте» и в тесте «Принудительное плавание по Porsolt». Механизм действия этих новых производных оценивали с использованием флумазенила и WAY100635 в «Приподнятом крестообразном лабиринте». В отличие от LQFM214, LQFM211 и LQFM213 вызывали анксиолитический и антидепрессантоподобный эффекты. Блокада эффекта LQFM213 с помощью WAY100635 предполагает участие серотонинергического пути.

Dashyan с соавт. получили данные об анксиолитической активности производных трициклических тиено[2,3-*b*]пиридинов и тетрациклических пиридопиридино[3,2-*d*]пиримидин-8-онов, особенно выраженной в соединениях 3*b*-*f* и 4*e* [Dashyan et al., 2022]. Исследуемые соединения увеличивают латентное время первой иммобилизации на модели «Принудительное плавание по Porsolt» и проявляют антидепрессивное действие. Исследования докинга показали, что соединения 1-амино-5-(3,5-диметил-1*H*-пиразол-1-ил)-8,8-диметил-*N*-фенил-8,9-дигидро-6*H*-пирано[4,3-*d*]тиено[2,3-*b*]пиридин-2-карбоксамид (3*c*) и 5-(3,5-диметил-1*H*-пиразол-1-ил)-2,2-диметил-9-фенил-1,4-дигидро-2*H*-

пирано[4'',3'':4',5']пиридо[3',2':4,5]тиено[3,2-d]пиримидин-8(9*H*)-он (4b) прочно связываются в активном центре рецепторов γ -аминомасляной кислоты типа A (GABA_A) со значением функции, оценивающей свободную энергию связывания (ΔG), равной $-10,0 \pm 5$ ккал/моль. Изучение взаимосвязей структура–активность показало, что наличие фенильного (3c), 2,4-диметоксифенильного (3d) и фенетильного (3f) заместителей во втором положении тиофенового кольца трициклического пиранотиенопиридинового фрагмента и всех тетрациклических пирано[4'',3'':4',5']пиридо[3',2':4,5]тиено[3,2-d]пиримидин-8-онов (4b-e), кроме соединения 4a, усиливали горизонтальную двигательную активность животных.

Demin с соавт. тестировали группу из десяти новых производных N-бензил-2-фенилэтиламина с 2,4- и 3,4-диметоксизамещениями в фенетиламиновой части и -OCH₃, -OCF₃, -F, -Cl, и -Br заменами в *орто*-положении фенильного кольца N-бензильного фрагмента, оценивая их поведенческие эффекты у взрослых особей рыб вида *Danio rerio* [Demin et al., 2022]. Моделирование функциональной молекулярной активности *in silico* дополнительно подтвердило сходство мишеней изучаемых соединений и серотонинергических/антиглутаматергических препаратов.

Целью исследования *Malawska с соавт.* был синтез ряда новых оснований Манниха, полученных из 4,4-дифенилпирролидин-2-она, имеющих различные замещения 4-фенилпиперазинов, в качестве потенциальных противосудорожных средств с дополнительными фармакологическими свойствами [Malawska et al., 2017]. Соединение 8 показало защиту (25%) в тестах «Коразоловые судороги» и «Максимальный электрошок» в дозе 100 мг/кг и не было нейротоксичным. В тесте «Четыре пластины» 4,4-дифенил-1-((4-фенилпиперазин-1-ил)метил)пирролидин-2-он дигидрохлорид (соединение 8) в дозе 30 мг/кг показало статистически значимую анксиолитическую активность ($p < 0,05$). В тесте двигательной активности соединение значительно снижало двигательную активность животных на 79,9%.

Как подтверждено выше широким рядом литературных источников, эффект-ориентированный поиск и на современном этапе находит место в поиске

новых соединений с высокой фармакологической активностью. Можно отметить, что в этих исследованиях достаточно широко применяются методы фармакологического анализа взаимодействия новых соединений с неиспытанным механизмом действия и стандартных препаратов, а также применение находят методы молекулярного моделирования связывания и аффинитета к различным рецепторам (докинг-анализ).

Достижения в разработке препаратов с противотревожным действием

Одним из достижений отечественной психофармакологии является открытие и введение в клиническую практику феназепама. Влияние феназепама и сиднокарба на поведение мышей линий C57BL/6, CBA и BALB/c изучали в тесте «Открытое поле» [Seredenin et al., 1979]. В опытах на крысах также показано, что однократное введение феназепама в дозах 0,5 и 2 мг/кг снижает периоды засыпания и пребывания в сознании, сокращает продолжительность парадоксальной фазы сна и увеличивает продолжительность медленноволновой фазы сна, что свидетельствует об интенсивности снотворного действия препарата [Voronina et al., 1981].

Не менее важным открытием стало введение в клиническую практику этокси-2-[2-(морфолино)-этилтио]бензимидазола дигидрохлорида - фабомотизола (афобазол), агониста σ -рецепторов, зарегистрированного в России в 2006 г. в качестве анксиолитического средства [Synyakov et al., 2016]. Результаты теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» показали, что анксиолитический эффект фабомотизола (2,5 мг/кг внутривентриально), вводимого самцам мышей BALB/c за 30 минут до теста, блокировался антагонистами σ_1 -рецептора BD-1047 (1,0 мг/кг, внутривентриально) и предварительной обработкой NE-100 (1,0 мг/кг, внутривентриально). Согласно результатам исследования *in silico*, фабомотизол локализуется в активном центре σ_1 -рецептора, воспроизводя взаимодействия с аминокислотами сайта, общие для установленных лигандов σ_1 -рецепторов, со значением связывания с G белком, близким к значению агониста (+)-пентазоцина в сайте связывания 6DK1 [Voronin et al., 2021].

В НИИ фармакологии имени В. В. Закусова в 2018 г. изучено производное пирроло[1,2- α]пиперазина под шифром GML-1, лиганда TSPO с анксиолитическим действием, исследованным в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» на крысах в дозе 1 мг/кг. Установлено, что величина анксиолитического эффекта GML-1 не коррелирует с его концентрацией в плазме крови [Novitskii et al., 2018; Яркова и др., 2018].

За авторством *Ковалева Г. В.* издано множество научных работ, посвященных фармакологии нейротропных и сердечно-сосудистых средств, в том числе книга «Ноотропные средства» [Ковалев, 1990]. Также был сделан вклад в изучение гемодинамических свойств фенибута, в частности – его влияния на функциональную устойчивость мозгового кровообращения [Ковалев, Тюренков, 1981; Ковалев и др., 1983].

В рамках поиска и изучения противомигренозных средств, среди производных бензимидазола, *Спасов А. А. с соавт.* описали их влияние на 2A подтип серотониновых рецепторов. Для наиболее активного соединения RU-476 с помощью радиолигандного метода определяли способность связываться с 5-HT_{2A} рецепторами. Авторами было показано наличие нейрорепродуктивной активности у производного бензимидазола RU-476 *in vivo* при однократном и хроническом введении на животных поведенческих моделях [Спасов и др., 2017; Яковлев и др., 2015].

В работах выполненных под руководством *Тюренкова И. Н.* преимущественно изучены различные производные ГАМК и различные нейроактивные аминокислоты [Музыка Е.А. с соавт., 2019; Багметова В.В. с соавт. 2017]. Было найдено новое средство с антидепрессантным, анксиолитическим и нейропротекторным действием – гидрохлорид β -фенилглутаминовой кислоты РГПУ-135 (нейроглутам) и изучено его влияние на общее состояние и поведение аутистических мышей при хроническом стрессе, вызванном повторными истощающими физическими нагрузками. Нейроглутам вводили животным внутривенно в дистиллированной воде в дозах 13, 26 и 52 мг/кг на протяжении 6 дней ежедневно однократно за 1 ч до плавания. Установлено, что

нейроглютам проявляет стресс-протекторные свойства в дозах 26 мг/кг и, в меньшей степени, 52 мг/кг: уменьшает выраженность нарушений общего состояния и поведения животных в домашней клетке, препятствует падению массы тела, в постстрессорном периоде способствует повышению локомоторной и исследовательской активности, уменьшению проявлений тревоги в «Открытом поле» и выраженности депрессивноподобного поведения в тесте «Подвешивания мышей за хвост» [Тюренков и др., 2017; Тюренков и др., 2015]. В рамках скрининговых исследований проводилось изучение и иных химических классов - производных [4-оксохиназолин-3(4н)-ил]уксусной кислоты [Арчакова и др., 2016], 2-замещенные 5-(гетеро)алкил-6-гидроксипиримидин-4(1H)-оны [Новаков и др., 2023].

ГАМК-ергический механизм действия нейроглутама был выявлен путем анализа влияния антагониста ГАМКА-рецепторов бикакуллина (1 мг/кг) и антагониста ГАМК_B-рецепторов баклофена (2 мг/кг) на характер и выраженность эффектов нейроглутама (26 мг/кг) в «Открытом поле» и «Темной/светлой камере». При сочетанном применении нейроглутама и бикакуллина анксиолитический и антидепрессивный эффекты нейроглутама не проявлялись, то есть для их реализации необходима активация ГАМК_A-рецепторов [Тюренков и др., 2015]. Под руководством Тюренкова И. Н. также были исследованы функциональные аспекты нейропротекторного действия новых солей и композиций баклофена при судорожном синдроме, вызванном электрошоком [Tyurenkov et al., 2012].

Таблица 1.2 – Сводные данные по механизмам действия производных описанных химических классов

Химический класс	Шифр	Мишень	Ссылка
Н-пропил-2,2-дифенил-2-гидроксиацетамид	Соединение 5	Ингибитор потенциалзависимых натриевых каналов	Pastore et al., 2018
Н-пропилциннолин	AZD7325	Селективный модулятор системы рецепторов ГАМК _A	Artelsmair et al., 2018
Аминохинолин	DCUK-OEt	Селективный ПАМ ГАМК _A -рецепторов	Borghese et al., 2017
Арилгидантоин-1,3,5-триазин	Соединения 18 и 26	Агонист 5-НТ ₆ -рецепторов	Kurczab et al., 2018
Арилсульфаниламид	ADN-1184	Агонист 5-НТ _{6/5} -НТ _{7/5} -НТ _{2A} /D ₂ -рецепторов	Khoury et al., 2018
Бензенсульфонамид	PZ-1150	Антагонист 5-НТ ₇ -рецепторов	Słoczyńska et al., 2018
Бензимидазол	M084	Ингибитор TRPC ₄ и TRPC ₅	Yang et al., 2015
	RU-476	Антагонист 5-НТ _{2A} -рецепторов	Спасов и др., 2017
Бензоксазол	YQA-14	Селективный антагонист D ₃ -рецепторов	Rice et al., 2018
Имидазопиридазин	PF-06372865	ПАМ для ГАМК _A -рецепторов	Nickolls et al., 2018
Ксантин	HC-070	Ингибитор рекомбинантных гомомультиметров TRPC ₄ и TRPC ₅	Just et al., 2018
Комбинация аминокислот с эфирами	Zlc-002	Ингибирование nNOS-CAPON	Zhu et al., 2020
Метилгидантоин	MF-8	Агонист 5-НТ ₇ -рецепторов	Latacz et al., 2018
Нафтоакридин	KNT-127	Агонист δ-опиоидного рецептора	Yamada et al., 2019
Пиперазин	LQFM032	Бензодиазепиновый фрагмент ГАМК _A -рецепторов	Brito et al., 2017
	LQFM180	Агонист 5-НТ _{1A} -рецепторов	Brito et al., 2018

Химический класс	Шифр	Мишень	Ссылка
2-метоксифенилпиперазин	НБК-17	Агонист 5-НТ _{1А} и 5-НТ ₇ -рецепторов	Rytka et al., 2018
2-фторфенилацетамид	ADX71441	ПАМ для ГАМК _B -рецепторов	Kalinichev et al., 2016
3-тиоксопирано[3,4-с][1,2,4]триазоло[4,3-а]пиридин	5g	Аффинность к ГАМК, SERT и 5-НТ _{1А} -рецепторам	Paronikyan et al., 2019
4-(4-метоксифенил)-2,3,4,5-тетрагидро-2,3-бензодиазепин-1-он	VBZ102	Агонист бензодиазепиновых рецепторов	Amaghnouje et al., 2021
4-фенил-3-арилсульфохинолин	Соединение 25	Агонист mGluR ₅	Galambos et al., 2017
N-{2-[2-(фенокси)этокси]этил}пиперазин	Соединение 1	Сродство к 5-НТ _{1А} , 5-НТ _{2А} , 5-НТ ₆ , 5-НТ ₇ , D ₂ и α ₁ -рецепторам	Pańczyk et al., 2018
Пиперидин	F13714	Частичный агонист 5-НТ ₆ -рецепторов	Jastrzębska-Więsek et al., 2017
	F15599	Агонист 5-НТ _{1А} -рецепторов	Assié et al., 2010
	RS67333	Агонист 5-НТ ₄ -рецепторов	Faye et al., 2020
	YL-0919	Частичный агонист 5-НТ _{1А} -рецепторов и СИОЗС	Ran et al., 2018
Пиразол	Соединения 9, 10 и 17	ИМАО А	Koç et al., 2014
Пиразолин	PFC-3 и PFC-12	ИМАО А	Upadhyay et al., 2017
Пиридин	S32212	Обратный агонист 5-НТ _{2С}	Dekeyne et al., 2012
	SB242084	Антагонист 5-НТ _{2С} -рецепторов	Heisler et al., 2007
	ST-1283	Антагонист Н ₃ -рецептора	Bahi et al., 2014
Пиримидин	AVN-492	Агонист 5-НТ ₆ -рецепторов	Łażewska et al., 2019
	SSD114	ПАМ для ГАМК _B -рецепторов	Porcu et al., 2016
	WYQ-C36D	Ингибитор фосфодиэстеразы 9	Huang et al., 2018

Химический класс	Шифр	Мишень	Ссылка
Тетрагидролиналоол	Соединение 1	Аффинность к nNOs, SGC, IL-6, 5-HT _{1A} , NMDAR и D ₁	da Silva P. R. et al., 2022
Фенилпропенон	РААМНВА	Антагонист 5-HT ₁ , 5-HT _{2A/2C} и 5-HT _{3A/3B} -рецепторов	Ferreira et al., 2020
Флавоноид	6-MeOF	ПАМ для ГАМК _A -рецепторов	Akbar et al., 2017
Хиназолин	АСН-000029	Селективный агонист 5-HT _{1A} и 5-HT _{1D} и антагонист 5-HT _{2A} -рецепторов, антагонист α_{1A} , α_{1B} и α_{1D} -рецепторов	Azevedo et al., 2019
Хиноксалин	6n	Антагонист 5-HT ₃ -рецепторов	Bhatt et al., 2017
Хинолинон	D2ААК1	Агонист D ₁ -, D ₃ -, 5-HT _{1A} - и 5-HT _{2A} -рецепторов	Kondej et al., 2019

Примечание: ПАМ – положительный аллостерический модулятор; ИМАО – ингибитор моноаминоксидазы.

Заключение

Тревога является мультифакториальным и патогенетически разнообразным заболеванием, характеризующимся высокой степенью медико-социальной значимости. В рамках настоящего исследования были изучены анксиолитические свойства новых производных различных химических классов, представляющих собой изостеры бензодиазепинового и бензимидазолового скаффолдов, определены основные паттерны иных нейрпсихотропных активностей соединений с наибольшей активностью, возможные пути реализации их противотревожного действия, а также оценка безопасности для дальнейшего углубленного исследования присущих им свойств.

Выбранный в текущей работе подход поиска веществ, проявляющих выраженную анксиолитическую активность, основан на концепции оптимизации – изостеризации как базовой структуры, так и синтетической модификации с созданием рядов производных с различными заместителями. В качестве стартового скаффолда был выбран C²,C³-хиноксалин, также известный как 1,4-бензодиазин. Удаление атома углерода из цикла, содержащего азот,

модифицирует его в бензимидазол. Для обеих структур отмечается широкий спектр фармакологических эффектов [Bhatt et al., 2013; Скрипка, 2021; Жуковская и др., 2020]. И, если для производных бензимидазола известны примеры веществ с выраженной психотропной активностью (RU-31) [Яковлев и др., 2019], или уже существующие в клинической практике лекарственные препараты – производное меркаптобензимидазола афобазол, то для хиноксалинов противотревожные эффекты выявлены относительно недавно [Kurhe et al., 2014; Kurhe et al., 2015]. Дальнейшая модификация структуры посредством присоединения diazepinového фрагмента позволила получить новый по своей химической структуре класс соединений - diazepino[1,2-a]benzimidazol. Такая структура не является первой «химерной» молекулой, объединяющей в себе 2 привилегированных подкласса (имидазольный и diazepinový). Ранее были попытки создать сходную структуру: midazolam – снотворный препарат, используемый, в том числе, как средство для наркоза [Nordt et al., 1997]. В основе этого лекарственного средства лежит «химера» привилегированных классов – imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepin. Однако, выбранная структура содержит принципиально иной подход, где бензольное кольцо присоединено к имидазольному участку, а diazepinový фрагмент совмещен с имидазольным, в отличие от midazolama, где центральным участком в трицикле является diazepinový компонент. Учитывая представление об изостерах, можно утверждать, что такой способ оптимизации в большей степени соответствует представлению не столько об изостерах, сколько об изостерных способах модификации. В настоящем исследовании проводится изучение и модификация изостеров бензимидазольного и бензодиазепинового скаффолдов, в связи с чем выполнен анализ различных производных указанных структур - C²,C³-хиноксалина, 2-меркаптобензимидазола, [1,3]diazepino[1,2-a]benzimidazola, triazepino[5,4-a]benzimidazola, triazabenzо[a]циклопента[сd]азулениума, 2,3-бензодиазепина и triazolo[3,4-a][2,3]benzodiazepina.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

В рамках настоящей работы на анксиолитическую активность было протестировано и оценено 81 соединение - производные различных химических классов. Информация о строении изучаемых соединений, их лабораторных шифрах, а также лабораториях, выполнивших их синтез, приведена в Таблице 2.1¹.

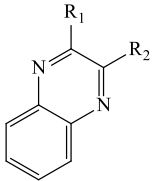
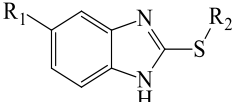
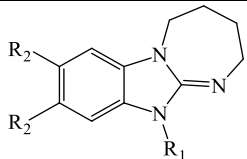
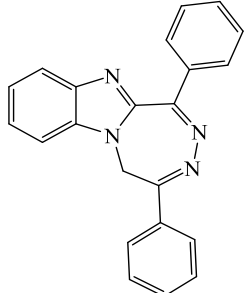
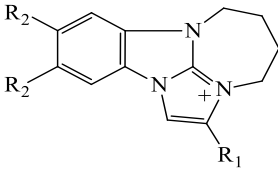
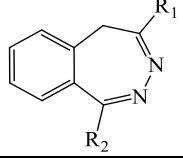
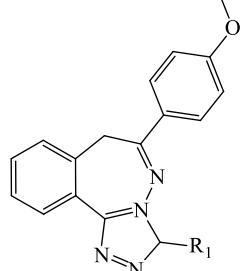
Отдельно в каждом из представленных химических классов было исследовано:

- 1) 15 соединений под шифром ЗДМ – производные C^2, C^3 -хиноксалина;
- 2) 8 соединений под шифром АЖ – производные 2-меркаптобензимидазола;
- 3) 38 соединений под шифром ДАБ – производные 1*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола;
- 4) 1 соединение под шифром РД – производное 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазола;
- 5) 6 соединений под шифром ДАБ – бромиды 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума;
- 6) 4 соединения под шифром РД – производные 5*H*-2,3-бензодиазепина;
- 7) 9 соединений под шифром РД – производные 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина.

Структуры всех исследованных соединений приведены в Приложении А, таблицы А.1 – А.8.

¹ Примечание: выражаем особую благодарность в предоставлении информации о химических структурах и названиях веществ сотрудникам лабораторий НИИ ФОХ ЮФУ и СКЗНИВИ.

Таблица 2.1 - Сводные данные по изучаемым соединениям

№	Химическая структура	Наименование гетероцикла	Лаборатория	Шифры
1		C ² ,C ³ -хиноксалин	НИИ ФОХ ЮФУ г. Ростов-на-Дону; СКЗНИВИ г. Новочеркасск	ЗДМ
2		2-меркаптобензимидазол	НИИ ФОХ ЮФУ г. Ростов-на-Дону	АЖ
3		11H-2,3,4,5- тетрагидро[1,3]дiazепин о[1,2-а]бензимидазол	НИИ ФОХ ЮФУ г. Ростов-на-Дону	БИФ, ДАБ
4		1,4-дифенил-5H- [1,2,5]триазепино[5,4- а]бензимидазол	НИИ ФОХ ЮФУ г. Ростов-на-Дону; Донецк	РД
5		3,4,5,6-тетрагидро- 2а,6а,10b- триазабензо[а]циклопент а[cd]азулен-2а-иум	НИИ ФОХ ЮФУ г. Ростов-на-Дону	ДАБ
6		5H-2,3-бензодиазепин	НИИ ФОХ ЮФУ г. Ростов-на-Дону; Донецк	РД
7		7H-[1,2,4]триазоло[3,4- а][2,3]бензодиазепин	НИИ ФОХ ЮФУ г. Ростов-на-Дону; Донецк	РД

Примечание: выражаем особую признательность в предоставлении информации о химических структурах и названиях веществ сотрудникам указанных лабораторий

При проведении экспериментов были использованы следующие вещества: Галоперидол (раствор для внутримышечного введения в ампулах «Галоперидол», 5 мг/мл, Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко, Россия); L-ДОФА («Sigma», США); Диазепам (раствор для внутривенного и внутримышечного введения в

ампулах «Сибазон», 5 мг/мл, АО «Органика», Россия); Серотонин («Sigma», США); Норадреналин («Sigma», США); Дофамин («Sigma», США); Буторфанол (раствор для внутривенного и внутримышечного введения «Буторфанол», 2 мг/кг, ФГУП Московский эндокринный завод, Россия); Флумазенил (раствор для внутривенного введения «Анексат», 0.5 мг/5 мл, Cenexi SAS, Франция); Пикротоксин («Sigma», США); Апоморфин («ICN Biomedical», США); 5-гидрокситриптофан («Sigma», США); Клофелин (таблетки «Клофелин», 15 мг, ФГУП Московский эндокринный завод, Россия); Коразол («Sigma», США); Имипрамин (таблетки «Мелипрамин», 25 мг, ЭГИС ЗАО Фармацевтический завод, Россия); Амитриптилин (таблетки «Амитриптилин», 25 мг, ФГУП Московский эндокринный завод, Россия); Резерпин (таблетки «Резерпин», 25 мг, «Польфа», Польша); гидроксиндолуксусная кислота (ГИУ, «Sigma», США); Флуоксетин (капсулы «Флуоксетин», 20 мг, АО Медисорб, Россия).

Исследования проведены на нелинейных половозрелых белых мышак-самцах массой 17-23 г (n=2016), мышак самцах линии C57BL/6 массой 18-22 г (n=48) и нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 190-210 г (n=228). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351.000.3-96 и 51000.4-96), Приказу МЗ и СР РФ от 23 августа 2010 г. №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики», а также отвечали директивам 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г по охране животных, используемых в научных целях. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» IRB 00005839 IORG 0004900 (ONRP) №2023/191 от 02.06.2023 г.

2.2 Методы исследования

Работа представляет собой одноцентровое, рандомизированное доклиническое исследование, имеющее целью изучение новых анксиолитических средств. Все исследования проведены и согласуются с рекомендациями, изложенными в главе 16 «Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств» [Воронина Т.А. с соавт., 2012] «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» по ред. А.Н. Миронова (2012).

Дизайн исследования можно разделить на несколько этапов:

I. Поиск соединений с анксиолитической активностью.

1. Проведение поиска и оценка перспективности среди различных химических классов методами *in silico*;
2. Направленный поиск веществ с анксиолитической активностью на модели «Приподнятый крестообразный лабиринт»;
3. Изучение зависимости проявляемого эффекта соединения от их структуры;
4. Построение нейросетевой модели оценки анксиолитической активности.

II. Нейропсихотропная активность соединений лидеров.

1. Изучение противотревожного действия соединений в зависимости от дозы и времени введения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»;
2. Изучение анксиолитической активности по базисным поведенческим тестам;
3. Дополнительные тесты для расширенного исследования анксиолитической активности;
4. Изучение сопутствующих психотропных эффектов;
5. Оценка психотропных эффектов при 14-дневном введении.

III. Исследование возможных анксиолитических механизмов действия наиболее активных соединений.

1. Прогноз возможных механизмов действия в системе PASS;
2. Взаимодействие соединений с лигандами нейромедиаторных систем *in vivo*;

3. Влияние соединений на различные рецепторные системы *in vitro*.

IV. Оценка безвредности наиболее активных соединений.

1. Оценка перспективности изучения в системе прогноза ADMET;
2. Исследование острой токсичности соединения;
3. Нейротоксикологические эффекты веществ в тесте S. Irwin;
4. Оценка аддиктивного потенциала соединения в тесте «Условной реакции предпочтения места».

2.2.1 Изучение анксиолитической активности по базисным поведенческим тестам

Стоит учитывать, что существует значительное разнообразие методов для изучения противотревожной активности соединений. Их можно подразделить на основные (базисные) и дополнительные. В качестве базисных методов можно выделить методы наказуемого (тест конфликтной ситуации по Vogel) и ненаказуемого (методика «Приподнятый крестообразный лабиринт») поведения [Воронина с соавт., 2012]. Выбор методов во многом зависит от материальной базы экспериментатора и целей, которые ставятся перед исследовательской группой. Нами были выбраны «классические» тесты: «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле», «Темная/светлая камера», «Наказуемое взятие воды по Vogel» и «Закапывание шариков».

Для скринингового исследования была выбрана модель «Приподнятый крестообразный лабиринт», в связи с тем, что она имеет достаточно прямолинейные и ясные параметры регистрации тревожных паттернов поведения животных (в сравнении с тестами «Открытое поле» и «Закапывание шариков»), не требуют длительного обучения (сравнении с тестом «Наказуемое взятие воды по Vogel») и более распространены в сравнении с тестом «Темная/светлая камера». В рамках поиска основной акцент был сфокусирован на 2 показателях: время нахождения в открытом рукаве и количество выходов в открытый рукав.

Наиболее активные соединения были протестированы во всех выше указанных экспериментальных моделях.

Приподнятый крестообразный лабиринт. Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» является одним из наиболее классических для первичной оценки анксиолитического потенциала новых соединений. Метод ПКЛ был основан на естественном предпочтении грызунами темных нор, а также на страхе нахождения на открытых площадках и падения с высоты [Багметова и др., 2014; Ковалёв и др. 2019]. Для «Приподнятого крестообразного лабиринта» формируется приподнятая на 50 см над уровнем пола арена с двумя светлыми и двумя темными рукавами [Fioravanti et al 2023]. Животных помещали в приподнятый крестообразный лабиринт и в течение 5 мин регистрировали основные анксиолитические показатели: время нахождения в открытом рукаве (с) и количество выходов в открытый рукав установки ПКЛ.

Открытое поле. Установка «Открытое поле» представляла собой круглую арену [da Silva et al., 2018]. Мышь помещалась на центральную площадку, и в течение 5 минут подсчитывались основные параметры, такие как горизонтальная и вертикальная двигательные и поисковая активности [Seibenhener et al., 2015]. Помимо поведенческой активности, тест «Открытое поле» может быть использован для неспецифической оценки влияния соединений на тонус скелетной мускулатуры экспериментальных мышей, а также для формирования общей характеристики эмоционального фона животного (повышенная активность, заторможенность, длительный груминг как показатель комфортного состояния, число болюсов) [Kurkin et al., 2021].

Темная/светлая камера. Методика темной/светлой камеры использует естественное стремление грызунов избегать ярко освещенных мест и по идеологии близка к методике «Приподнятого крестообразного лабиринта» [Costal et al., 1989; Воронина и др., 2012]. Контрольной группе животных внутрижелудочно вводилась дистиллированная вода в эквивалентном объеме, группе препарата сравнения – диазепам в дозе 1 мг/кг. Время наблюдения за каждым животным составило 5 минут. Регистрировали общее время, проведенное животным в светлой камере установки (с), а также латентное время перехода в темный отсек (с) и общее количество переходов между отсеками.

Наказуемое взятие воды по Vogel. Методика наказуемого взятия воды по Vogel основана на подавлении питьевого рефлекса крыс электрическим раздражителем, в результате чего у животного возникает конфликт двух мотиваций - питьевой и защитной [Миронов, 2013; Bailey et al. 2011]. Перед началом эксперимента животные подвергались водной депривации на 72 ч без ограничений в корме. Для выработки условного питьевого рефлекса за 48 ч до проведения теста животных на 5 мин индивидуально помещали в клетку, оснащенную поилкой и электродным полом. В экспериментальный день к поилке подключали электрод, крысу помещали в клетку на 10 мин, и каждое взятие воды сопровождали электрическим разрядом (1 мА) спустя 10 с после начала приема жидкости животным. Фиксировали параметры латентного времени первого подхода в поилке (с), латентное время подхода к поилке после первого удара током (с) и общее количество подходов к поилке за время наблюдения.

Тест «Закапывания шариков». Тест «Закапывания шариков» позволяет оценить не только противотревожный, но и антифобический, антикомпульсивный потенциал новых соединений. Объекты оказывают анксиогенное действие на животных, вызывают состояние, гомологичное обсессиям и стимулируют компульсивное закапывание [Шабанов, 2016; Лебедев, 2017]. В соответствии с описанием методики по N. Egashira и др. [Egashira et al., 2013; Hayashi et al., 2010], для проведения исследования были подготовлены пластиковые клетки 350*250*200 мм, на дне которых находился слой опилок толщиной в 5 см. На поверхности покрытия располагались стеклянные блестящие непрозрачные шарики диаметром 15 мм в количестве 24 штук. Они были распределены на расстоянии 5 см друг от друга и от стенок установки. Сверху бокс был накрыт металлической сеткой. Животное помещалось в угол установки индивидуально, после чего производилось наблюдение за ним на протяжении 30 минут. По истечении указанного периода времени проводился подсчет числа шариков, закопанных не менее чем на 2/3 их объема [Куркин и др., 2017].

2.2.2 Дополнительные тесты для расширенного исследования анксиолитической активности

Как и базовые методы, дополнительные тесты являются достаточно многообразными. Такие тесты являются более сложными и затрачивают больше времени, но расширяют представление о специфической анксиолитической активности. Были выбраны 3 теста: «Тревожно-фобическое состояние», «Резидент-интродер» и «Хронический непредсказуемый легкий стресс». Стоит отметить, что тест «Резидент-интродер» является более комплексным тестом, где можно оценить не только антифобическое действие вещества, но и влияние на зоосоциальные паттерны.

Тревожно-фобическое состояние. В тесте ТФС предполагается, что для оценки степени стрессированности животных необходимо учитывать их видоспецифическое реагирование на серию адекватных тест-стимулов, провоцирующих проявление основных эмоциональных состояний, таких как страх, тревожность и агрессия [Шабанов, 2016; Лебедев, 2017]. Большинство тестов методики проводили с применением установки «Открытое поле». Методика включает основные ситуации, в которых крысы реагируют проявлением страха и тревоги: 1) столкновение с незнакомым неживым объектом или незнакомой ситуацией; 2) появление в поле зрения животного руки экспериментатора или контакт с ней. При оценке результатов теста ТФС учитывали следующие параметры:

1) в зависимости от времени выполнения теста: латентное время спуска с платформы (тест 1), латентное время прохождения через отверстие (тест 2), латентное время выхода из домика (тест 3), латентное время выхода из центра «Открытого поля» (тест 4). В данном случае тесты оценивались: 0 баллов – крыса совершает действие за время от 0 до 30 с; 1 балл – за 31-60 с; 2 балла – за 61-180 с; 3 балла - более чем за 180 с либо не выполняет тест.

2) в зависимости от реакции животного: спонтанное пачение в «Открытом поле» (тест 5), пачение при виде руки экспериментатора (тест 6), затаивание/вокализация/прижимание ушей при контакте с рукой

экспериментатора (тесты 7-9). Пячение в «Открытом поле» оценивалось при резкой смене освещенности либо спонтанно у крыс: 0 баллов – отсутствие реакции; 1 балл – пячение в пределах 0-0,5 квадратов; 2 балла – 0,5-2 квадратов; 3 балла – более 2 квадратов. Результаты тестов 6-9 оценивались следующим образом: 0 баллов - реакция отсутствует при приближении руки экспериментатора к животному и его поглаживании; 1 балл - реакция возникает при поглаживании; 2 балла – реакция возникает при виде руки экспериментатора; 3 балла – реакция сохраняется после прекращения поглаживания животного.

Далее проводили суммирование всех баллов по каждому тесту, осуществляли сравнение между группами животных и анализ данных: чем больше баллов в сумме, тем выше степень тревожности животного [Шабанов, 2016; Лебедев, 2017].

Резидент-интродер. В рамках теста к более крупному самцу-резиденту, за 30 минут до начала наблюдения получавшим исследуемые субстанции, подсаживали меньшего по массе интродера, после чего в течение 5 минут наблюдали за основными паттернами – индивидуальное, агрессивное, коммуникативное и защитное поведение резидента [Koolhaas et al. 2013]. Индивидуальное, т.е. не ассоциированное с партнером, поведение подразумевало аутогруминг, число стоек, состояние покоя, движение на месте, фризинг. Агрессивными считались укусы, атаки, позы агрессии, боковые стойки. Коммуникативная общительность включала следование за партнером, обнюхивание его тела и генитальной области, груминг партнера, подползание и наползание на него. Защитное поведение квалифицировалось по избеганию интродера, защитным стойкам, позе подчинения «на спине» [Wei et al. 2014]. Указанные параметры оценивались по числу зарегистрированных во время наблюдения составляющих форм поведения. Фиксировался каждый поведенческий акт или поза экспериментального животного.

Методика хронического непредсказуемого легкого стресса. Моделирование хронического непредсказуемого легкого стресса в основном применяется для создания депрессивного состояния животных, но может

применяться и для непосредственно хронической стрессированности [Antoniuk et al., 2019]. Моделирование производилось в течение 4 недель. Животные подвергались воздействию различных непредсказуемых стрессоров, случайным образом распределенных в течение 1 недели [Kurhe et al., 2015], например: 24-часовая депривация пищи, 24-часовая депривация воды, 1-часовое воздействие запаха хищника (крысы), 7-часовой наклон клетки (45°), ночное освещение, 24-часовая загрязненная клетка (200 мл воды в 100 г подстилки из опилок), 6-минутное принудительное плавание при 12°C, 24-часовое воздействие постороннего предмета (например, куска пластика). Контрольные животные не проходили процедуру. Последние две недели эксперимента животные получали исследуемые соединения и диазепам (1 мг/кг), имипрамин (8 мг/кг), amitриптилин (10 мг/кг), флуоксетин (10 мг/кг), афобазол (5 мг/кг) однократно в день перорально в течение 14 дней. После моделирования хронического легкого стресса проводили оценку анксиолитического потенциала соединений в «Приподнятом крестообразном лабиринте», после чего биологические пробы животных были выделены и переданы для исследования концентраций моноаминов в головном мозге грызунов методом ВЭЖХ.

2.2.3 Методы исследования сопутствующих психотропных эффектов

При расширенном изучении веществ с выраженным противотревожным действием, стоит ориентироваться на спектр фармакологической активности известных анксиолитиков. Важным является понимание наличия или отсутствия депримирующего или активирующего действия, противоэпилептического, гипногенного, антидепрессивного, миорелаксирующего, анальгетического и ноотропных эффектов вещества. Для выявления спектра нейротропной активности веществ использовались общепринятые тесты: «Экстраполяционного избавления», «Принудительное плавание по Porsolt», «Подвешивание за хвост», «Максимальный электрошок», «Коразоловые судороги», «Гексеналовый сон», «Отдергивания хвоста», «Горячей пластины», «Актометр», «Сетка/провода» и «Вращающегося стержня» [Воронина и др., 2012].

Тест экстраполяционного избавления (острая эвристическая ситуация).

Тест экстраполяционного избавления отражает степень влияния соединений на когнитивные функции животных, а также способность к поиску выходов из неблагоприятной ситуации [Бородкина и др., 2004]. Перед проведением эксперимента животные были типированы по уровню эмоционально-поведенческой лабильности, а крысы с крайними значениями поведенческих паттернов были исключены из исследования. Для тестирования животных температура воды составила 22°C, цилиндр был погружен в воду на 2,5 см [Якимова и др., 2013]. В начале тестирования каждая крыса была посажена внутрь прозрачного цилиндра. Время тестирования составило 2 минуты. Оценивали время поиска животным выхода из созданных условий, а также время выполнения задачи.

Принудительное плавание по Porsolt. Тест является классическим для определения антидепрессивного потенциала новых соединений. Экспериментальные группы получали вещества трёхкратно – за 24, 6 и 1 ч до начала тестирования [Porsolt et al., 1977], и включали: 1) группу контроля (дис. вода); 2) группу amitriptилина (10 мг/кг); 3) группу имипрамина (8 мг/кг); 4) группу diaзепамa (1 мг/кг); 5) опытные группы. Все вещества вводили животным внутрижелудочно атравматичным металлическим зондом. Для проведения теста были подготовлены 4 прозрачных плексигласовых цилиндра диаметром 10 см и высотой 27 см (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), заполненные водой комнатной температуры (23°C) до уровня 10 см. Мышь опускали в цилиндр на 6 мин, регистрацию поведения проводили со 2 по 6 мин. Основным параметром оценки результатов эксперимента стал показатель иммобилизации (фризинга) в секундах, соответствующий состоянию отчаяния, безысходности, при котором животное полностью прекращало попытки выбраться из воды [Porsolt et al., 1977]. За состояние иммобилизации принимали полную неподвижность животного, допускали незначительные движения для поддержания головы над поверхностью воды.

Подвешивание за хвост. Для теста «Подвешивания за хвост» мышей подвешивали с помощью клейкой ленты за среднюю треть хвоста к уровню 20 см от рабочей поверхности в установке «Тест подвешивания за хвост для мышей» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия). Экспериментальные группы были сформированы аналогично тесту «Принудительного плавания по Porsolt», описанному ранее, и получали вещества трёхкратно – за 24, 6 и 1 ч до начала тестирования. Время наблюдения составляло 6 минут, фиксировали время иммобилизации в секундах, соответствующее прекращению попыток животного избежать некомфортного положения [Can et al., 2012].

Максимальный электрошок. Тест «Максимального электрошока» (МЭШ) является моделью первично-генерализованной эпилепсии, моделирующей «большие» судорожные припадки. Наибольшую активность в данном тесте проявляют соединения, модулирующие/блокирующие потенциал-зависимые натриевые каналы [Миронов, 2013]. Животные получают через корнеальные электроды электрические стимулы 50 Hz, 50 mA длительностью 0,2 с [Воронина Т.А., 2012]. В контрольной группе возникает максимальная тоническая экстензия задних конечностей. В качестве препарата сравнения использовали вальпроевую кислоту в дозе 100 мг/кг [Жмуренко и др., 2018]. Исследуемые соединения вводили мышам внутрижелудочно за 30 минут до начала тестирования.

Коразоловые судороги. Методика «Коразоловых судорог» основана на ГАМК-ергическом воздействии на ЦНС новых соединений и известных препаратов и моделирует «малые припадки». Для диазепама характерны выраженные противосудорожные свойства в тесте «Коразоловые судороги», что связано с его ГАМК-миметическим действием [Dhaliwal et al., 2021]. На первом этапе исследования проводили выбор оптимальной дозы коразола ввиду его высокой гигроскопичности, она составила 75 мг/кг. Коразол вводили подкожно в область шейного отдела спины. Исследуемые соединения в эквимолярных диазепаму дозах вводили животным внутрибрюшинно за 30 минут до введения коразола. Контрольной группе животных вводили изотонический раствор хлорида натрия в эквивалентном объеме. За животными вели наблюдение в течение 30

минут после введения коразола. Для оценки противосудорожной активности регистрировали следующие показатели: латентный период до наступления судорог (с) и летальность животных в группе. Отсутствие судорог свидетельствовало о противосудорожной активности исследуемых веществ [Воронина Т.А., 2005].

Гексеналовый сон. В качестве модели оценки гипногенного потенциала был использован тест «гексеналового сна» [Козочкин и др., 2014]. Животным опытных групп внутрибрюшинно вводили исследуемые вещества и гексенал (60 мг/кг). Контрольным группам животных вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме и гексенал. Время сна оценивали с момента потери рефлекса переворачивания до момента его восстановления [Rubin et al., 1973]. Об уровне гипногенного действия судили по изменению продолжительности сна в опытных группах по сравнению с контрольной.

Тест «Отдергивания хвоста» (Tail-flick). Прибор «Tail-flick» (Ugo Basile, Италия) производит автоматическую фиксацию болевого порога животных при воздействии теплового раздражения (55°C). Животное помещают в специальный фиксатор, инфракрасное излучение фокусируется на хвосте животного специальным образом. При достижении болевого порога животное отдергивает хвост, что улавливается датчиком. Во избежание риска повреждения тканей животных максимальная длительность термического воздействия была ограничена 15 с. Критерием анальгетического эффекта считали статистически значимое увеличение латентного периода реакции после введения исследуемого вещества по отношению к интактным животным.

Тест «Горячей пластины» (Hot plate). Тест горячей пластины основан на поведенческих реакциях, контролируемых супраспинальными структурами, в ответ на болевое воздействие. Данная экспериментальная модель позволяет не только оценить обезболивающее действие вещества, но и определить уровень вмешательства в нейромедиаторные процессы ЦНС. Мышей помещали на термостатически контролируемую, электронагревательную поверхность, окруженную цилиндром диаметром 15 см с установленным температурным

режимом (55°C). Во избежание риска повреждения тканей животных максимальная длительность термического воздействия была ограничена 30 с. Регистрировали латентный период болевой реакции в виде облизывания задних лап. Критерием анальгетического эффекта считали статистически значимое увеличение латентного периода реакции после введения исследуемого вещества по отношению к интактным животным.

Актометр. Аппарат «Актометр» (Ugo Basile, Италия) состоит из квадратной пластины (40 x 40 x 30 см) с регистрирующим движения металлическим полом [Воронина и др., 2002]. Регистрировалось количество совершённых животным двигательных актов за 5 минут эксперимента.

Сетка/Проволока. Для теста «Сетка» животных помещали на горизонтально расположенную сетку с нижней стороны (вниз головой). В течение 30 секунд теста регистрировали количество лапок, задействованное животным для удержания. Сходные показатели фиксировались и для теста «Проволока», где животные должны были подтянуться на проволоке, за которую они держались двумя лапками. Измерение миорелаксирующей активности в тесте «Сетка» выражали в баллах таким образом: если животное все время эксперимента держалось за проволоку всеми 4 лапами – эта мышь оценивалась в 4 балла, если 3 лапами – 3 балла, 2 лапами – 2 балла, 1 лапой – 1 балл, если животное падало с установки – 0 баллов. Измерение миорелаксирующей активности в тесте «Проволока» так же выражали в баллах: если животное во время эксперимента было способно подтянуться всем телом и забраться всеми 4 лапами на проволоку – 4 балла, если мышь была способна воспользоваться только 3 конечностями и оставалась в подвешенном состоянии – 3 балла, если животное все время эксперимента висело на 2 лапах – 2 балла, если висело на 1 лапе – 1 балл, если мышь падала с установки – 0 баллов [Мирошников и др., 2020].

Тест вращающегося стержня («Ротарод»). Прибор «Ротарод» представляет собой вращающийся с постоянной скоростью 10 оборотов в минуту стержень диаметром 2,5 см. Для изучения влияния исследуемых соединений на миорелаксацию мышь помещали на стержень, после чего регистрировали время

удержания на нем – максимально 30 секунд. Для каждого животного допускалось не более трех попыток с регистрацией лучшего результата.

2.2.4 Исследование возможных анксиолитических механизмов действия наиболее активных соединений

На первом этапе определения механизма анксиолитического действия использовались методы *in silico* (метод максимального сходства к эталонам базовой структуры наиболее перспективного класса и методы и система PASS online для соединений лидеров). Далее эффекты исследовались с применением тестов *in vivo* и *in vitro*.

Тест взаимодействия с флумазенилом. Наличие ГАМК-ергического механизма действия соединений проверяли применением флумазенила в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». Экспериментальные группы мышей получали: 1) дис. воду (группа контроля); 2) диазепам (1 мг/кг); 3) исследуемые соединения; 4) диазепам + флумазенил (1 мг/кг) за 30 минут до введения диазепама [Гречко и др., 2018]; 5) исследуемые соединения + флумазенил за 30 минут до введения веществ. Установка состоит из двух темных и двух светлых рукавов, соединенных центральной площадкой, и возвышена над уровнем пола на 50 см. Животное помещали на центральную площадку, после чего осуществляли наблюдение за ним в течение 5 минут. В качестве основных показателей противотревожного действия соединений регистрировали количество выходов в светлый рукав, а также время нахождения в светлом рукаве (с) [Таран и др., 2017; Мирошников и др., 2018].

Тест взаимодействия с пикротоксином. Пикротоксин является сильным антагонистом рецепторов ГАМК, что лежит в основе характерной для него способности вызывать у экспериментальных животных тремор и повторяющиеся клонические судороги [Воронина и др., 2012]. Эффекты исследуемых соединений изучали при введении мышам внутрижелудочно в эффективных дозах, в контрольной группе животные получали дистиллированную воду [Агацарская и др., 2019]. Все растворы вводили за 30 минут до введения пикротоксина (2,5 мг/кг, в/б). После этого в течение 60 минут наблюдали за животными, отмечая

латентный период появления тремора (с), латентный период развития судорог (с) и общее число судорожных приступов.

Оценка серотонинового механизма действия. Для анализа влияния исследуемых соединений на серотонинергическую нейротрансмиссию использовали 5-гидрокситриптофан (5-ГТФ), введение которого приводит к возникновению у мышей гиперкинеза в виде резких встряхиваний головой. В эксперименте использованы: 1) группа контроля, получавшая 5-ГТФ в дозе 300 мг/кг, внутривенно (в/в); 2) опытная группа, получавшая соединения за 30 минут до введения 5-ГТФ в указанной дозе. Число встряхиваний головой оценивали в экспериментальных группах каждые 10 минут на протяжении 60 минут после введения 5-ГТФ [Миронов, 2013].

Для определения возможных механизмов связанных с бета-арестинным путем² было проведено исследование с использованием набора Tango™ HTR2A-*bla* U2OS DA (Thermo Fisher Scientific, США). В качестве препарата сравнения применялся ципрогептадина гидрохлорид (Merck, США). Изучение 5-HT_{2A}-антагонистической активности проводилось в концентрации 10⁻⁷ моль/л.

Связывание изучаемого лиганда с трансфицированным на клетках человеческого 5-HT_{2A}-рецептором запускает бета-арестинный внутриклеточный каскад, который в последствии флуоресцирует. Основным показателем, отражающим развитие 5-HT_{2A}-антагонистического действия на тест-системе Tango™ HTR2A-*bla* U2OS DA, является уровень интенсивности FRET, рассчитываемый как отношение флуоресценции при двух длинах волн (460/530 нм).

Тест «Галоперидоловой каталепсии». В тесте «Галоперидоловой каталепсии» оценивалась способность крыс к сохранению заданной непривычной позы. Были задействованы: 1) группа контроля (галоперидол, 3 мг/кг, в/в); 2) опытная группа, получавшая вещества за 30 минут до введения галоперидола.

² Исследование выполнено в лаборатории высокопроизводительного скрининга НЦИЛС ВолгГМУ под руководством д.м.н., проф. Яковлева Д.С., выражаем глубокую благодарность за помощь в проведении работ.

Выраженность каталепсии оценивалась в баллах каждые 30 минут эксперимента на протяжении 120 минут по шкале С. Morpugo (1962) [Cox et al., 1967]: 1 балл – передняя лапа крысы слегка отводится и помещается на подставку высотой 3 см; 2 балла – крыса стоит на задних лапах, одна передняя помещена на подставку высотой 10 см; 3 балла – крыса стоит на передних лапах, одна задняя лапа помещена на подставку высотой 10 см [Островская и др., 2012].

Тест «Ареколинового тремора». Для определения степени центрального М-холинергического потенциала исследуемых соединений применялся тест с ареколином, при применении которого у мышей развивались гиперсаливация и тремор: 1) контрольная группа мышей получала ареколин в дозе 15 мг/кг в/б; 2) опытная группа получала соединения в/ж за 30 минут до введения ареколина. Регистрация длительности тремора (с) и латентного периода его возникновения (с) проводилась сразу после введения ареколина [Воронина и др., 2012].

Тест «Апоморфиновой стереотипии». Было изучено взаимодействие исследуемых соединений с дофаминергической системой с применением теста «Апоморфиновая стереотипия» на крысах. Оценку двигательной стереотипии проводили при введении апоморфина (0,1 мг/кг [Трегубова и др., 2015]) подкожно (п/к) крысам в область шейного отдела спины [Гузеватых и др., 2002]. Контрольная группа получала физиологический раствор в/ж за 30 минут до введения апоморфина, опытная - исследуемые соединения. Показатели апоморфиновой стереотипии фиксировали через 30, 60, 90 и 120 минут после введения апоморфина.

Тест «Никотинового тремора». Н-холинотропный потенциал исследуемых соединений оценивался в тесте «Никотинового тремора»: 1) первая группа контроля получала никотин (2 мг/кг, в/б), в результате чего у животных развивался тремор, но судорог не наблюдалось; 2) вторая группа контроля получала никотин (4 мг/кг, в/б), что приводило к развитию судорог у 100% мышей; 3) первая опытная группа получала исследуемые соединения за 30 минут до введения никотина (2 мг/кг, в/б); 4) вторая опытная группа получала исследуемые соединения за 30 минут до введения никотина (4 мг/кг, в/б).

Результаты теста оценивались процентным отношением животных, у которых развивались судороги или тремор, к общему числу животных в группе [Damaĳ et al., 1999].

Тест взаимодействия с L-ДОФА. Исследование субстанции на наличие MAO-ингибирующего действия проводили на мышах с введением первой контрольной группе L-ДОФА (500 мг/кг, в/б), второй контрольной группе - L-ДОФА (100 мг/кг, в/б), опытной группе – L-ДОФА (100 мг/кг, в/б) через 30 минут после введения исследуемых соединений [Тюренков и др., 2015]. Оценку двигательной стереотипии, обусловленной применением L-ДОФА, производили через 30, 60 и 90 минут теста. Для интерпретации проявления стереотипии была использована 3-х балльная шкала: 0 баллов – отсутствие стереотипии; 1 балл – отдельные стереотипные движения, в том числе единичные случаи зевательных движений, непостоянное принюхивание; 2 балла – непродолжительно длящаяся интенсивная стереотипия, в том числе зевание, лизание и грызение; 3 балла – постоянная и интенсивная стереотипия [Трегубова и др., 2015].

Тест «Клофелиновой гипотермии». Оценку взаимодействия исследуемых соединений с адренергической системой производили в тесте «Клофелиновая гипотермия» на мышах. В тесте были задействованы: 1) группа интактного контроля; 2) контрольная группа, получавшая клофелин (0,1 мг/кг, в/б); 3) опытная группа, получавшая соединения за 30 минут до введения клофелина. Оценивали изменение ректальной температуры мышей с помощью термодатчика AnD DT-623 (A&D, Китай) при погружении электрода на глубину 1,5-1,8 см каждые 30 минут эксперимента на протяжении 120 минут [Миронов, 2013; Андреева и др., 2005].

Тест «Резерпиновой гипотермии». Тест «Резерпиновая гипотермия» на мышах включал: 1) интактный контроль; 2) контроль с резерпином (2,5 мг/кг, в/б); 3) опытную группу, получавшую исследуемые соединения за 30 минут до введения резерпина. Оценивалось изменение ректальной температуры мышей до введения резерпина, а также через 240 и 270 минут эксперимента [Воронина и др., 2012].

Методика высокоэффективной жидкостной хроматографии³.

Для определения концентрации моноаминов и их метаболитов в мозге мышей применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, исследования проводили с опорой на литературные данные Ковалева Д.Г. с соавт., 2010, и Смирновой Л.А. с соавт., 2013-2019. Использовался хроматограф с флуоресцентным детектором, длина волны экстинкции составила 280 нм, а длина волны эмиссии – 320 нм. Мобильная фаза для хроматографической колонки содержала 5% ацетонитрила для ВЭЖХ и 95% буферной системы, состоящей из 50 мМ K_2HPO_4 при pH=3,0 [Смирнова и др., 2019]. В работе использовались стандарты норадреналина (Sigma, США), допамина (Sigma, США), дигидроксифенилуксусной кислоты (ДОФУК, Sigma, США), серотонина (Sigma, США), гидроксиндолуксусной кислоты (5-ОИУК, Sigma, США). Идентификацию исследуемых веществ и расчет концентраций проводили по методу абсолютных стандартов [Ковалев и др., 2010]. Валидационные характеристики количественного определения биогенных аминов в биологических пробах представлены в Таблице 2.2. Наркотизация животных проводилась с применением хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг. Мозг помещали в жидкий азот и в последующем хранили при $t=-20^0C$ [Смирнова и др., 2013]. В качестве анализата использовали 25% гомогенаты мозга в 0,1 Н $HClO_4$. Экспериментальные соединения, а также диазепам (1 мг/кг), имипрамин (8 мг/кг), амитриптилин (10 мг/кг), флуоксетин (10 мг/кг), афобазол (5 мг/кг) и дистиллированную воду вводили мышам в рамках процедуры хронического непредсказуемого легкого стресса.

³ Исследование выполнено в лаборатории фармацевтических аналитических исследований НЦИЛС ВолгГМУ под руководством д.б.н., проф. Смирновой Л.А., выражаем глубокую благодарность за помощь в проведении работ.

Таблица 2.2 - Валидационные характеристики количественного определения биогенных аминов в биологических пробах

Биогенный амин	Аналитический диапазон, нг/мл	R ²	Прецизионность	Точность	Предел количественного определения, нг/мл
Серотонин	25-250	0,991	≤10%	>95%	25
Норадреналин	10-100	0,9988			10
Дофамин	25-250	0,9997			25
ДОФУК	25-100	0,9946			25
5-ОИУК	25-250	0,9967			25

Исследование взаимодействия соединений с NMDA- и AMPA-глутаматергическими рецепторами гиппокампа крыс.⁴ Все экспериментальные процедуры были одобрены комитетом по биологической этике ИЭФБ РАН. Линия крыс Wistar (самцы) 13–18 дней жизни массой 25-35 грамм были получены из экспериментально-биологической клинки ИЭФБ РАН. Были приложены максимальные усилия, чтобы свести к минимуму количество используемых животных и минимизировать дискомфорт во время проводимых процедур. Крыс анестезировали под уретановым наркозом и затем декапитировали. Производилась быстрая экстракция мозга с последующим охлаждением до 2–4 °С. Корональные срезы гиппокампа и стриатума были получены с использованием вибротома (Campden Instr.) с последующим выделением пирамидальных клеток и интернейронов с помощью метода вибродиссоциации [Vorobjev, 1991]. Все эксперименты проводились при комнатной температуре. Был использован метод локальной фиксации потенциала в режиме «Целая клетка» для записи мембранных токов при аппликации агонистов и исследуемых блокаторов. Последовательное сопротивление около 20 МΩ было компенсировано на 70-80 %. Мембранные токи были записаны с использованием усилителя ЕРС-8 (НЕКА Electronics). Сигнал фильтровался в

⁴ Исследование выполнено в лаборатории биофизики синаптических процессов ИЭФБ РАН PhD в.н.с. Барыгиным О.И., Дроном М.Ю. под руководством чл.-корр. РАН. Тихоновым Д.Б., за что выражаем глубокую благодарность.

полосе частот 0-5 кГц и оцифровывался с частотой дискретизации 1 кГц. Подача растворов осуществлялась с использованием системы мультиканальной перфузии RSC-200 (BioLogic). Контроль поддерживаемого на мембране потенциала, управление системой аппликации, регистрацию и анализ данных осуществляли с помощью персонального компьютера. Состав внеклеточного раствора (миллимоляр): NaCl 143, KCl 5, CaCl₂ 2.5, D-glucose 18, HEPES 10 (pH был подведен до физиологических значений (7.4) с использованием гидроксида натрия. Микропипетки заполнялись раствором (миллимоляр): CsF 100, CsCl 40, NaCl 5, CaCl₂ 0.5, EGTA 5, HEPES 10 (pH был подведен до физиологических значений и соответствует внутриклеточной среде (7.2) с использованием гидроксида цезия. Эксперименты по действию веществ на NMDA и кальций-непроницаемые AMPA рецепторы проводились на пирамидальных нейронах гиппокампа (CA1 зона), по действию на кальций-проницаемые AMPA рецепторы - на гигантских холинергических интернейронах стриатума. Для идентификации типа клеток помимо морфологического использовали фармакологический критерий – чувствительность к избирательному блокатору кальций-проницаемых AMPA рецепторов ИЭМ-1925. NMDA рецепторы активировались 100 мкМ NMDA и 10 мкМ глицина. AMPA рецепторы активировались 100 мкМ каината. Процент блокады ионных токов измерялся при потенциале фиксации -80 мВ, значения ИК₅₀ рассчитывались с помощью уравнения Хилла. Концентрация предполагаемых антагонистов для построения дозозависимых кривых варьировала в пределах 1-100 мкМ. Данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение на основе как минимум пяти экспериментов.

2.2.5 Методы компьютерного прогноза анксиолитической активности

Прогноз в системе PASS (Predicted Activity Spectrum for Substances) предназначен для определения спектра активности химических соединений путем подсчета критериев P_a (вероятная активность) и P_i (вероятная неактивность). Набор фармакологических эффектов, механизмов действия и специфической токсичности, которые могут проявляться конкретным соединением при его взаимодействии с биологическими объектами и которые предсказываются PASS

[Paramashivam et al., 2015], основан на анализе отношения структурной активности (SAR) обучающей выборки, содержащей более 205 000 соединений, обладающих более чем 3750 видами фармакологических эффектов и биологической активности [Goel et al., 2011]. Соединения с более высоким значением P_a , чем P_i , являются единственными компонентами, которые считаются возможными для конкретной фармакологической активности [Khurana et al., 2011; Goel et al., 2011]. Соединения с разностью $P_a - P_i > 0,5$ считались потенциально высокоактивными, а с $0,5 > P_a - P_i > 0,3$ – умеренноактивными.

2.2.6 Изучение сопутствующих побочных действий, возможной лекарственной зависимости и острой токсичности

Для оценки возможных побочных эффектов вещества были протестированы в системе ADMET. Негативные эффекты от средней эффективной до субтоксических оценивались в многопараметровом тесте S Irwin. Определены показатели полуметалетальной дозы и развитие вторичной аддикции в тесте «условной реакции предпочтения места».

ADMET-анализ. Для производных диазепино[1,2-а]бензимидазола с наибольшей активностью был произведен прогноз *in silico* присущих им общетоксикологических, фармакокинетических, метаболических свойств методом ADMET-анализа, с использованием наиболее популярных интернет-сервисов: ProTox 2 [Banerjee et al., 2018], SwissADME [Daina et al., 2017], pkCSM [Pires et al., 2015], admetSAR [Chen et al., 2012] и ADMETlab [Dong et al., 2017].

Оценка острой токсичности и определение полуметалетальной дозы (LD_{50}). Оценку острой токсичности соединений проводили на белых нелинейных мышах–самцах массой 18-22 г при однократном внутрижелудочном введении [Арзамасцев и др., 2012]. Животные помещались в индивидуальные клетки со свободным доступом к воде и пище. Наблюдение за животными осуществлялась в течение 14 дней после введения вещества. На основании полученных результатов рассчитывался LD_{50} , оцененный по методу Литчфилда-Вилкоксона [Беленький, 1963].

Нейротоксикологические свойства соединений в тесте по S.Irwin. При изучении общетоксических свойств соединений их вводили мышам перорально в эффективной дозе, а также в дозах, превышающих эффективную в несколько раз. Исследование нейротоксикологического профиля соединений проводилось по методу «S. Irwin» в модификации [Бугаева и др., 2012]. Оценивали спектр изменений поведенческих реакций (настороженность, пассивность, агрессия, беспокойство, спонтанная двигательная активность), нервно-мышечных (судороги, парезы, тремор, реакции на раздражители) и вегетотропных эффектов (размер зрачка, птоз верхнего века, урикации, дефекации, саливации, цвет кожи, частота дыхания, температура тела). Каждый параметр в норме был приравнен к 4 баллам; изменение его на 25 % обозначалось в 1 балл. Возрастание внешних признаков функционирования препарата указывалось по шкале от 4 до 8 баллов, а снижение – от 4 до 0. В шкале оценок токсического профиля вещества для признаков, отсутствующих в норме или присутствующих незначительно, активность выражалась от 0 до 8 баллов (0 – отсутствие эффекта) [Спасов и др., 2019]. Прогнозировалась доклиническая степень безопасности, обозначалась минимальная токсическая доза (ТД_{мин}).

Тест «Условной реакции предпочтения места» (УРПМ). В рамках этой методики производится введение веществ с потенциально вторичной аддикцией в определенной обстановке, в частности, в двухсекционной камере с цветным полом. Животные больше времени стараются проводить в камере, ассоциированном с введением вещества [Миронов и др., 2012]. В первый день теста с закрытым переходом давался период привыкания (1 минута), после чего период произвольного исследования (20 минут). Во 2–9 дни эксперимента определяли предпочтение животным определенного отсека. Мышам вводили исследуемые соединения или растворитель 1 раз в день и помещали в соответствующую камеру, после чего сравнивали время, проведенное животным в разных отсеках установки.

2.2.7 Нейросетевое моделирование анксиолитической активности⁵

Биомишени, релевантные анксиолитической активности изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов. На данном этапе выполнения настоящего исследования формировался список биомишеней, наиболее значимых для формирования анксиолитической активности изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов.

В информационной системе Open Targets [URL: <https://www.opentargets.org/>] найдено 2057 мишеней, ассоциированных с тревожным расстройством. Дополнительно был использован перечень 2697 белков-мишеней Homo sapiens из оригинальной QSAR-DB системы Microcosm BioS 20.6.6 [Vasilyev et al., 2019], для которых имелись экспериментальные данные по различным видам таргетной активности химических соединений.

В результате сопоставления этих двух списков, с уточнением данных по доступным литературным источникам, был сформирован перечень из 92 биомишеней человека, релевантных анксиолитической активности и имеющих достоверное подтверждение в виде экспериментальных данных по активности соединений.

Сравнительный анализ структур изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов позволил выявить 7 хемотипов, основными из которых являются диазепинобензимидазол, хиноксалин, бензоимидазопиразин, меркаптобензимидазол, бензодиазепин. Каждому хемотипу был присвоен вес, пропорциональный числу изучаемых производных данного хемотипа.

Совокупно по всем 7 хемотипам и каждой из 92 релевантных анксиолитических биомишеней, методом структурного сходства с использованием оригинального ПО Microcosm 7.2 [Vassiliev et al., 2014] и Microcosm BioS 20.6.6 [Vasilyev et al., 2019] были вычислены 15468 средних оценок уровня таргетной активности, интервал изменений от $Ind=+5$ (очень

⁵ Исследование выполнено в лаборатории информационных технологий в фармакологии и компьютерного моделирования лекарств НЦИЛС ВолгГМУ под руководством д.б.н., проф. Васильева П.М., за что выражаем глубокую благодарность.

высокая) до $\text{Ind}=-5.0$ (неактивно). Найденные значения служили метрикой для отбора биомшеней, наиболее соотносимых с высоким уровнем анксиолитической активности производных анализируемых хемотипов. Отобраны 14 наиболее значимых биомшеней с общим средним индексом уровня активности по всем хемотипам $\text{IndGen} \geq 0$ и с максимальным средним индексом уровня активности по конкретному хемотипу $\text{IndMax} \geq 1$, с учетом литературных данных о найденном в эксперименте высоком уровне рассматриваемого вида активности производных конкретного хемотипа: ADRA1A, ADRA1B, ADRA2A, ADRA2B, AGTR1, GABRA1/GABRB2/GABRG2, HTR1A, HTR2A, HTR4, HTR7, MTNR1A, MTNR1B, GRIN1/GRIN2A/GRIN2B, SLC18A2 (указаны общепринятые сокращенные обозначения белков).

При выборе валидных 3D-моделей 14 анксиолитических биомшеней, значимых в отношении 7 исследуемых хемотипов, были рассмотрены наиболее полные экспериментальные 3D-модели, доступные в базах данных UniProt [URL: <https://www.uniprot.org/>], PDBe [URL: <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/>] и RCSB PDB [URL: <https://www.rcsb.org/>]. Кроме того, для белков, состоящих из одной субъединицы, в базе данных AlphaFold [URL: <https://alphafold.ebi.ac.uk/>] были найдены построенные по гомологии теоретические модели. Всего по 14 релевантным анксиолитическим биомшеням было обработано 43 3D-модели: 29 экспериментальных рентгеноструктурных и 14 теоретических, построенных по гомологии.

Критериями валидности экспериментальных 3D-моделей белков-мишеней служили следующие параметры рентгеноструктурного анализа: 1) длина смоделированной аминокислотной последовательности; 2) разрешение; 3) число фрагментов.

Критериями валидности теоретических 3D-моделей служили их следующие базовые характеристики: 1) длина смоделированной аминокислотной последовательности; 2) процент идентичных аминокислот в моделируемом белке и белке-шаблоне; 3) статистическая достоверность модели, по совокупности расчетных критериев оценки качества.

В результате для 14 релевантных 7 исследуемым хемотипам анксиолитических белков-мишеней Homo sapiens были найдены 14 валидных 3D-моделей.

Верифицированная база данных по структуре и анксиолитической активности известных соединений, релевантных хемотипам изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов. На данном этапе выполнения настоящего исследования была создана верифицированная база данных, в которую вошли проверенные формулы известных соединений, структурно сходных с изучаемыми хемотипами, с указанием проверенных порядковых значений анксиолитической активности, полученных в результате кластерного анализа.

Информация о химической структуре и анксиолитической активности известных соединений была получена из базы данных ChEMBL [URL: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/>]. Химические формулы из первичных наборов данных были валидированы: проверены связи и валентности, развернуты многоатомные функциональные группы, структуры приведены к стандартному виду. В соответствии с правилами лекарственного подобия, из рассмотрения были исключены структуры с молекулярным весом более 1000 дальтон. Все верифицированные данные были объединены в один набор.

Данные по анксиолитической активности найденных известных соединений были получены в 97 различных методиках для 5 различных организмов. Весь массив биологической информации был проверен на корректность. Структуры, для которых были указаны не интерпретируемые значения анксиолитической активности, исключались из рассмотрения.

Каждая запись из итогового набора данных содержала структурную формулу соединения, значение его анксиолитической активности и ссылку на литературную публикацию, в которой были приведены эти данные. Как результат, был создан верифицированный массив информации, в который вошли структуры 663 известных соединений, испытанных мировым научным сообществом на анксиолитическую активность.

Был проведен экспертный анализ данных по анксиолитической активности 663 известных соединений из первичной базы данных, полученных в 97 различных методиках. С целью их унификации сходные по условиям экспериментального тестирования данные были объединены в 33 общих группы, от 11 до 161 значения в каждой группе.

В каждой такой группе с помощью программы Statistica 7 [Hilbe, 2007] методом k-средних был выполнен кластерный анализ количественных значений анксиолитической активности с разделением на 5 групп активности: высокая, умеренная, низкая, активная, неактивная.

Полученные порядковые метки уровня активности были занесены в первичную базу данных и проверены на непротиворечивость. Для структур, у которых в базе данных имелось несколько записей с несколькими градациями активности, за итоговый уровень анксиолитической активности принималась средняя оценка.

В результате была создана верифицированная база данных, содержащая про-веренные структурные формулы 663 известных соединения и унифицированные порядковые оценки их анксиолитической активности. На указанную базу данных получено свидетельство о государственной регистрации [Vassiliev et al., 2022].

С помощью плагина SimScaf 20.9.1 программы Microcosm 7.2 [Vasilyev et al., 2019], с учетом весов хемотипов, было отобрано 216 известных анксиолитических соединений, структурно сходных с 7 изучаемыми хемотипами. Для получения представительной выборки было принято, что число отбираемых структур должно быть больше произведения числа хемотипов на число релевантных к ним биомишеней ($15 \cdot 14 = 210$).

Средний QL-модифицированный коэффициент сходства Танимото [Vasil'ev et al., 2021] отобранных структур с каждым из скаффолдов колебался от 0.160 до 0.431. Алгоритм программы предусматривал отбор только соединений с индивидуальными особенностями строения, исключая появление дубликатов структур.

В результате была создана верифицированная база данных по структуре и анксиолитической активности 216 известных соединений, структурно сходных с 7 изучаемыми хемотипами, содержащая проверенные структурные формулы и унифицированные порядковые оценки анксиолитической активности указанных веществ.

Ансамблевый докинг известных испытанных на анксиолитическую активность соединений, релевантных хемотипам изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов. На данном этапе выполнения настоящего исследования был проведен расчет методом докинга матрицы аффинности 216 известных анксиолитических соединений, структурно сходных с 7 изучаемыми хемотипами, к 17 сайтам 14 белков-мишеней человека, релевантным анксиолитической активности указанных хемотипов.

Для всех 216 известных анксиолитических соединений, структурно сходных с изучаемыми хемотипами, методами молекулярной механики с помощью программы MarvinSketch 17.1.23 [URL: <https://chemaxon.com/products/marvin>], отдельно для каждого соединения, были построены по 10 конформеров с наименьшей энергией. Построенные конформеры были оптимизированы с помощью ПО MOPAC2012 [URL: <http://www.openmopac.net/MOPAC2012.html>] с использованием полуэмпирического квантово-химического метода PM7. Среди 2160 оптимизированных конформеров были отобраны для каждого соединения по одному конформеру с наименьшей общей энергией.

Для выявления сайтов связывания в мишенях были использованы три подхода: 1) литературные данные о точечных аминокислотных мутациях в белках; 2) выявление с помощью LigPlot+ 1.4.5 program [URL: <https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LigPlus/>] аминокислот, обуславливающих связывание лигандов в экспериментальных 3D-моделях белков; 3) литературные данные о молекулярном моделировании связывания лигандов с соответствующими белками. Использование одновременно трех подходов позволило обеспечить надежность определения локализации сайтов и их ключевых связывающих аминокислот.

В трех биомишенях было выявлено по два разных сайта связывания: для GABRA1/GABRB2/GABRG2 ГАМК- и бензодиазепиновый; для HTR2A серотониновый и аллостерический; для GRIN1/GRIN2A/GRIN2B блокирующий кальциевые каналы и глутаматный. Таким образом, для 14 биомишеней было определено 17 сайтов связывания различного вида.

Ансамблевый докинг оптимизированных 3D-моделей 216 известных анксио-литических соединений, структурно сходных с 7 изучаемыми хемотипами, в 17 сайтов связывания 14 валидных 3D-моделей 14 белков-мишеней человека, релевантных анксиолитической активности изучаемых хемотипов, осуществлялся с помощью программ PyRx 0.8 [URL: <https://sourceforge.net/projects/pyr/x>] и AutoDock Vina 1.1.1 [URL: <https://vina.scripps.edu/>], с учетом данных о ключевых аминокислотах сайтов связывания и покрывающих сайты 3D-моделей пространств для докинга.

Отдельно для каждой 3D-модели каждого вида белка-мишени и каждой 3D-структуры 216 известных анксиолитических соединений докинг выполняли по пять раз, с рассмотрением 10 энергетически наиболее выгодных конформаций лиганда в сайте биомишени. По полученным 50 значениям для докинуемого соединения определяли минимальную энергию его докинга ΔE для данного вида биомишени. Всего таким образом был обработан массив из 183 600 значений энергий докинга.

По данным докинга была сформирована матрица аффинности 216 известных анксиолитических соединений, структурно сходных с 7 изучаемыми хемотипами, в отношении 17 сайтов 14 белков-мишеней, релевантных анксиолитической активности указанных хемотипов, включающая 3672 минимальных значений ΔE .

Нейросетевое моделирование зависимости уровня анксиолитической активности химических соединений от их аффинности к биомишеням, релевантным хемотипам изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов. На данном этапе выполнения настоящего исследования было проведено построение консесусной ансамблевой

мультитаргетной нейросетевой модели анксиолитической активности химических соединений, релевантных изучаемым хемотипам и произведена оценка точности сформированной модели. Обучение нейросетей осуществлялось с помощью ПО Statistica 7 [Hilbe, 2007] по схеме, изложенной в работе [Vassiliev et al., 2021].

Необходимая для нейросетевого моделирования содержательная верифицированная классификационная обучающая выборка по уровню анксиолитической активности и спектрам аффинности 216 известных соединений, структурно сходных с 7 изучаемыми хемотипами, включала в себя: 1) градированные значения анксиолитической активности этих соединений, полученные в результате кластерного анализа; 2) спектры минимальных значений энергий их взаимодействия с 17 сайтами 14 релевантных биомишей, полученные в результате ансамблевого докинга; 3) переменные сэмплинга.

Для использования в построении нейросетевых моделей дополнительно к уровню анксиолитической активности «high» («высокая») были введены объединенные градации активности: «high or moderate» («выраженная») и «high or moderate or low or active» («активно»). Для этих градаций активности в первичную таблицу были добавлены переменные с индексными обозначениями наличия/отсутствия этих уровней активности: h/nh, hm/nhm и a/na, для градаций «высокая», «выраженная» и «активно», соответственно.

Семь переменных сэмплинга задавали варианты формирования обучающей, тестовой и валидационной подвыборок в соотношении 5:1:1 и использовались для построения различных вариантов нейронных сетей. В первой такой переменной для пяти соединений подряд назначено значение train, затем для одного соединения – значение test и для одного соединения – значение val; затем блок назначений повторяется до исчерпания всех 216 соединений. Вторая и последующая переменные сэмплинга образуются в результате сдвига на одно соединение по таблице вниз.

Сформированная обучающая выборка представляет из себя матрицу из 216 строк с данными по соединениям, для каждого из которых в 29 столбцах определены следующие переменные:

Code – шифр-номер соединения; Level – кластеризованный уровень активности (high, moderate, low, inactive); LevH, LevHM, LevA – метки объединенных градаций активности (h/nh, hm/nhm, a/na); ADRA1A, ADRA1B, ..., SLC18A2 – энергии докинга в 17 сайтов белков-мишеней, ккал/моль; Sample1, ..., Sample7 – переменные сэмплинга.

В соответствии с теоремой Колмогорова [Kolmogorov, 1957], с помощью двухслойной искусственной нейронной сети может быть аппроксимирована зависимость любой сложности. При этом желательно было обеспечить свертку сигналов от множества входных нейронов в небольшое число промежуточных образов.

Поэтому в качестве исходной архитектуры нейронной сети был выбран двух-слойный перцептрон MLP k - m -2 с узким горлом. Здесь k – число входных нейронов, в данном случае 17, по числу энергий докинга в 17 сайтов биомишеней; m – число скрытых нейронов, устанавливается программой от 3 до 15, поскольку $2 < m < k$.

При построении классификационных перцептронных сетей в качестве функции ошибки наиболее оптимально использовать Cross entropy [Dubin, 2013]. В этом случае активационной функцией для выходных нейронов является многомерный вариант логистической функции Softmax, а для скрытых нейронов используются четыре наиболее распространенных активационных функции Identity, Logistic, Tanh, Exponential.

Обучение нейросетей проводили для каждой пары объединенных градаций h/nh, hm/nhm, a/na, с использованием алгоритма обратного распространения ошибок, перебором четырех различных активационных функций для скрытого слоя нейронов, с использованием семи вариантов сэмплинга.

С целью достижения наилучшего результата обучения, число сетей для каждой из трех пар градаций активности и каждого из семи вариантов сэмплинга было установлено в 6000, с автоматическим отбором в каждом цикле обучения 600 наилучших сетей. После окончания обучения для заданного уровня активности и заданного варианта сэмплинга из 600 лучших отобранных

программой нейросетей по совокупности характеристик точности обучения, тестирования и валидации вручную отбирали 5 лучших, из которых по показателям точности прогноза на объединенной выборке данного уровня активности вручную отбирали одну наилучшую.

Всего было обучено около 125 тыс. нейронных сетей и вручную проанализировано 12 600 автоматически отобранных нейросетей.

В результате была сформирована консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных 15 изучаемым хемотипам. Модель включает три ансамбля по семь нейросетей в каждом ансамбле для уровней активности h/nh , hm/nhm , a/na , в рамках которой выработка итогового заключения об уровне активности прогнозируемого соединения производится путем обобщения на основе двухуровневого консенсуса спектра прогнозных оценок, полученных с использованием 21 нейросети по трем уровням активности.

По каждому уровню активности для каждой отобранной нейросети были рассчитаны показатели общей точности прогноза на обучающей, тестовой и валидационной подвыборках, а также выполнена оценка на объединенной выборке общей точности прогноза F_0 , точности прогноза активных соединений F_a (чувствительность), точности прогноза неактивных соединений F_n (специфичность) и точность прогноза по данным ROC-анализа.

Консенсусная оценка уровня анксиолитической активности конкретной химической структуры с использованием полученного ансамбля нейронных сетей выполнялась следующим образом: для прогнозируемого соединения по каждому уровню активности с использованием семи нейросетей выполняли расчет наличия/отсутствия данного уровня активности, в результате чего получали спектр из трех наборов альтернативных прогнозных оценок. Обработку этого спектра первичных оценок проводили с использованием простого невзвешенного консенсуса, где результатом голосования по семи исходам принимался такой, для которого наблюдалось четыре или более совпадающих оценок.

В рамках данной модели консенсуса 1-го уровня по каждой градации активности для каждого ансамбля нейросетей была выполнена оценка на объединенной выборке общей точности консенсусного прогноза F_0 , точности консенсусного прогноза активных соединений F_a (чувствительность), точности консенсусного прогноза неактивных соединений F_n (специфичность) и точность консенсусного прогноза по данным ROC-анализа, который выполняли с помощью MedCalc 11.5.0.0 program [URL: <https://www.medcalc.org/>].

Суммарные консенсусные оценки 1-го уровня должны быть непротиворечивы [Vassiliev et al., 2014]. Для сформированной модели была рассчитана область применения в соответствии с правилом «трех сигм» [Pukelshein, 1994] по показателям энергии докинга ΔE для всех 17 сайтов 14 релевантных биомишеней и всех 216 соединений обучающей выборки, в виде минимума и максимума всех вычисленных граничных значений.

Консенсусный анализ чувствительности нейронов и определение биомишеней, наиболее значимых для формирования высокой анксиолитической активности соединений, релевантных хемотипам изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов. На данном этапе выполнения настоящего исследования был проведен консенсусный анализ чувствительности нейронов сформированного ансамбля нейросетей и определены биомишени, наиболее существенно влияющие на формирование высокого анксиолитического эффекта соединений, релевантных изучаемым хемотипам. Анализ чувствительности 17 нейронов семи нейросетей, построенных в семи сэмплингах для высокого уровня анксиолитической активности, осуществлялся с помощью ПО Statistica 7 [Hilbe, 2007] по схеме, изложенной в работе [Perfilev et al., 2020]. Нативные значения индексов чувствительности нейронов одной сети переводились в проценты относительно суммы этих индексов.

При классификации мишени как значимой, граничным уровнем чувствительности ее нейрона было принято нормированное значение 6% (100%/17, округленно). Консенсусно значимыми считали мишени, которые были

определены как ключевые в пяти или шести нейросетях из семи нейросетей, полученных в разных сэмплингах.

Консенсус показателей чувствительности, вычисленных для нескольких нейросетевых моделей на разных сэмплах одной и той же обучающей выборки, позволяет получать более точные данные о значимости биомишеней. При этом, в силу основного фундаментального принципа всех нейросетевых технологий, учитывается взаимное влияние найденных наиболее значимых нейронов (биомишеней) друг на друга.

Построение мультитаргетных фармакофоров высокой анксиолитической активности изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов. На данном этапе выполнения настоящего исследования было проведено построение мультитаргетных фармакофоров высокой анксиолитической активности в отношении наиболее значимых биомишеней, с учетом их взаимного влияния друг на друга, на основе сведений о структуре новых испытанных производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов.

Для двух групп экспериментально изученных высокоактивных веществ с лабораторными шифрами ДАБ - 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-a]бензимидазолы [29,30] и РД - [1,2,4]триазоло[3,4-a][2,3]бензодиазепины [31] (по 4 соединения в каждой группе) по методикам, описанным выше, были построены оптимизированные 3D-модели и выполнен ансамблевый докинг. С помощью программы LigPlot+ v2.2 [32] для энергетически наиболее выгодной конформации в сайте конкретной мишени определены ключевые точки взаимодействия структуры анализируемой молекулы с аминокислотами данного белка.

Отдельно в каждой из двух групп соединений ДАБ и РД, для каждой значимой биомишени были построены монотаргетные фармакофоры высокой анксиолитической активности, путем выявления общих для соединений данной группы ключевых точек взаимодействия с конкретной мишенью. Точка взаимодействия считалась фармакофорной, если она была определена как связывающая не менее, чем в трех структурах из четырех.

Два мультитаргетных фармакофора высокой анксиолитической активности для совокупности четырех значимых биомаркеров в группах соединений ДАБ и РД были построены по аналогичной схеме, путем обобщения построенных монотаргетных фармакофоров.

2.3 Методы статистической обработки данных

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением теста на нормальность распределения данных Колмогорова-Смирнова с поправкой Делайла-Вилкоксона-Лилиефорса для малых выборок. Для парного сравнения при параметрическом распределении использовали t-критерий Стьюдента, при непараметрическом – U-критерий Манна-Уитни. В случае нормального распределения для множественных сравнений использовали one-way ANOVA с посттестом Даннета, в случае ненормального распределения данных – тест Краскелла-Уоллиса с посттестом Данна. Обработка экспериментальных данных проводилась с использованием ПО GraphPad Prism v.8.0., пакета Microsoft Excel 2010, Statistica v.7.0. Различия между группами считали значимыми при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ПОИСК СОЕДИНЕНИЙ С АНКСИОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Одним из подходов для создания более эффективных и безопасных лекарственных средств на основе прототипа с искомой фармакологической активностью является концепция изостеризма [Lima et al., 2005; Brown, 2012]. Всего для проведения фармакологического поиска веществ с анксиолитической активностью было отобрано 81 соединение, относящееся к 7 хемотипам – изостерам бензимидазола и бензодиазепина. На первом этапе исследования был проведен прогноз *in silico* наличия среди указанных производных анксиолитической активности с использованием тест-системы PASS. На втором этапе выполнен поиск высокоактивных соединений *in vivo* в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Третий этап включал в себя эмпирический анализ полученных данных взаимосвязи уровня активности новых соединений от их химического строения. На основании проведенного исследования были выбраны вещества с наиболее высокой анксиолитической активностью, перспективные для дальнейшего изучения их фармакологических свойств.

3.1 Прогноз перспективности изучения изостеров бензодиазепина и бензимидазола с применением тест-системы PASS

Для подтверждения гипотезы о перспективности изучения анксиолитической активности среди изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов был проведен прогноз в системе PASS.

Было проанализировано 81 соединение, относящиеся к различным химическим классам: 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолы; 2-алкилтиобензимидазолы; 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепины; 5*H*-2,3-бензодиазепины; 1,4-бензодиазины (хиноксалины); 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума бромиды; [1,2,5]триазепины.

Полученные результаты позволяют предполагать перспективы *in vivo* поиска противотревожной активности среди выбранных соединений. Используемый прогнозный метод имеет свои недостатки, поскольку шанс получения как ложноположительного, так и ложноотрицательного результатов

достаточно высок. В то же время, используемый критерий включения результатов, основанный на достаточно высоком уровне входного порога для критерия проявления активности $P_a (\geq 0,5)$, позволяет благоприятно расценивать полученный пул данных. Для более чем 35% соединений показана высокая вероятность наличия анксиолитического действия, а для 39% из 81 веществ отмечается потенциал их антифобической активности.

Как показано в более ранних работах [Poroikov et al., 2019; Adnan et al., 2020; Monaghan et al., 2017], использование системы PASS в качестве теста при монопрогнозе рекомендуется дополнять иными прогнозными системами, в особенности при таргетном поиске. В то же время, указанная система вполне подходит для ориентировочного прогноза эффекта. Дополнительным фактором являлись значительные показатели среднего соотношения правдоподобий, полученные в ходе расчётов и приведённые в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Расчет критерия P_a/P_i среди изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов в системе PASS

Фармакологическая активность	Среднее соотношение правдоподобий, $Aver (P_a/P_i)$
1,4-бензодиазины (хиноксалины)	
Анксиолитическая	8,1
Антифобическая	4,8
2-меркаптобензимидазолы	
Анксиолитическая	9,9
Антифобическая	5,1
11H-[1,3]дiazеино[1,2-a]бензимидазолы	
Анксиолитическая	6,4
Антифобическая	7,3
[1,2,5]триазепины	
Анксиолитическая	6,2
Антифобическая	4
3,4,5,6-тетрагидро-2a,6a,10b-триазабензо[a]циклопента[cd]азулен-2a-ниумы	
Анксиолитическая	3,4
Антифобическая	-
5H-2,3-бензодиазепины	
Анксиолитическая	3,3
Антифобическая	-
7H-[1,2,4]триазоло[3,4-a][2,3]бензодиазепины	
Анксиолитическая	6,12
Антифобическая	2,3

Дополнительно с целью оценки перспективности работы с выбранным пулом соединений в аспекте иных нейрорепрессивных активностей был составлен прогноз в системе PASS по каждому из соединений в отдельности (таблицы А.1 – А.5 Приложения А). По результатам прогноза, наиболее перспективными классами с точки зрения анксиолитических свойств являются 2-меркаптобензимидазолы и хиноксалины – с Pa/Pi 9,9 и 8,1, соответственно. По величине антифобического действия лидируют 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазолы, характеризующиеся наиболее высоким показателем среди исследуемых групп. Таким образом, на первом этапе оценки перспективности изучения анксиолитической активности производных бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов при использовании системы PASS показан высокий прогнозный потенциал выбранного пула соединений.

3.2 Поиск анксиолитически активных соединений в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Одной из основных методик для проведения скрининговых исследований анксиолитической активности новых соединений является тест «Приподнятый крестообразный лабиринт». В рамках выполнения теста проводится анализ превалирования одного из паттернов поведения грызунов – исследовательской активности, либо естественного страха перед открытыми, освещенными и возвышенными пространствами.

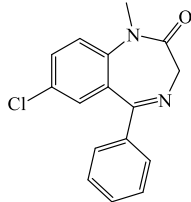
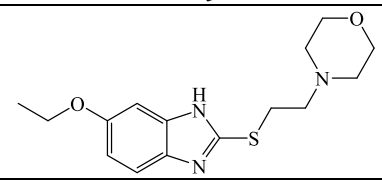
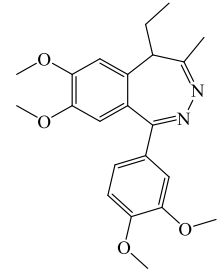
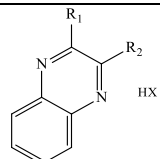
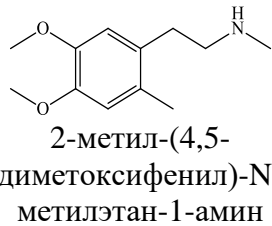
В качестве объектов исследования были выбраны различные производные бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов, а именно: 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазолы (БИФ и ДАБ), функционально-замещенные по алкильной группе 2-меркаптобензимидазолы (АЖ), 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепины (РД), 5*H*-2,3-бензодиазепины (РД), 1,4-бензодиазины (хиноксалины, ЗДМ) и 3,4,5,6-тетрагидро-2*a*,6*a*,10*b*-триазабензо[*a*]циклопента[*cd*]азулен-2*a*-иума бромиды (ДАБ). Препаратами сравнения послужили diaзепам (7-хлор-1-метил-5-фенил-1,3-дигидро-2*H*-1,4-бензодиазепин-2-он), афобазол (фабомотизол, дигидрохлорид 5-этокси-2-[(2-

морфолино)-этилтио]бензимидазола) и тофизопам (1-(3,4-диметокси-фенил)-4-метил-5-этил-7,8-диметокси-5*H*-2,3-бензодиазепин.

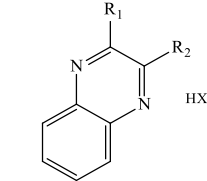
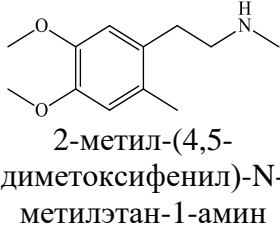
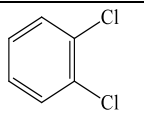
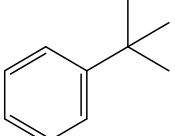
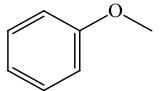
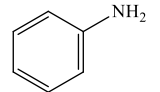
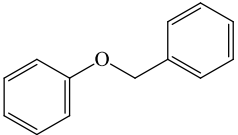
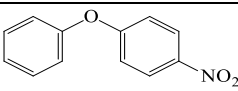
3.2.1 Производные C²,C³-хиноксалина

Было изучено 15 производных C²,C³-хиноксалина. Изученные производные проявили различный уровень антифобического действия. Для соединений с фенильным (ЗДМ-4) и 4-*трет*-бутилфенил (ЗДМ-81) заместителями в 2 положении и 2-метил-(4,5-диметоксифенил)-*N*-метилэтан-1-амином у третьего атома углерода отмечен противотревожный эффект, не уступающий диазепаму в дозе 1 мг/кг. Для субстанции с 3,4-дихлорфенил заместителем (ЗДМ-10) время, проведенное мышами в светлом рукаве установки ПКЛ, было снижено относительно контроля, что, возможно, связано с индукцией тревожного состояния животных под действием данного соединения. Под действием соединений ЗДМ-3, ЗДМ-6, ЗДМ-7, ЗДМ-96, ЗДМ-97, ЗДМ-98 и ЗДМ-99 время пребывания мышей в светлых рукавах установки статистически не отличалось от контрольных значений. По параметру числа выходов в открытые рукава ПКЛ вещества ЗДМ-4 и ЗДМ-81 проявили противотревожное действие на уровне диазепама. Животные, получавшие другие соединения этого ряда, редко покидали темные рукава ПКЛ, были малоактивны и не проявляли признаков спокойного состояния. Можно отметить, что соединения с наиболее высокой анксиолитической активностью, чей эффект статистически значимо превосходит контрольные значения, а именно соединения под шифрами ЗДМ-4, ЗДМ-5 и ЗДМ-81, содержат в своей структуре в качестве первого заместителя 2-метил-(4,5-диметоксифенил)-*N*-метилэтан-1-амин, в то время как при введении в структуру скаффолда 2-метил-(4,5-диметоксифенил)-*N,N*-диметилпропан-2-амин, 2-метил-(1*H*-индол-3-ил)-*N*-метилэтан-1-амин или 2-метил(фенил-*N,N*-диметилпропан-2-амин)а анксиолитическая активность производных снижалась до уровня контрольных значений (таблица 3.2).

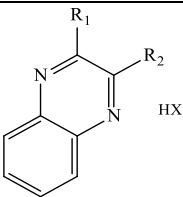
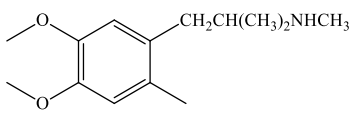
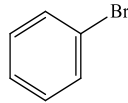
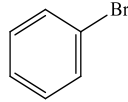
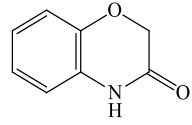
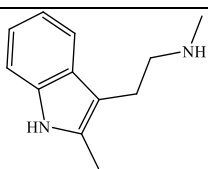
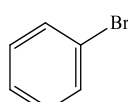
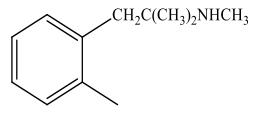
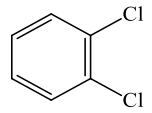
Таблица 3.2 - Анксиолитический эффект производных хиноксалина (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

Соединение		Химическая структура		Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ	
Контроль		-		27,0±6,06	1,3±0,21	
Диазепам (1 мг/кг)				69,2±7,20*	3,2±0,60*	
Афобазол (5 мг/кг)				47,7±7,17*	2,2±0,31	
Тофизопам (2 мг/кг)				102,2±3,62*	5,3±0,49*	
№	Шифр	 C ² , C ³ -хиноксалин		НХ	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
1	ЗДМ-3			НВr	16,7±7,13	0,8±0,30
2	ЗДМ-4	2-метил-(4,5-диметоксифенил)-N-метилэтан-1-амин		НВr	67,2±3,75*	2,4±0,50*
3	ЗДМ-5			(COO H) ₂	59,5±8,72*	2,0±0,68

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

№	Шифр	 C^2, C^3 -хиноксалин		НХ	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
4	ЗДМ-10	 2-метил-(4,5-диметоксифенил)-N-метилэтан-1-амин	 3,4-дихлорфенил	НВr	1,3±0,88	0,2±0,20
5	ЗДМ-81		 4- <i>tert</i> -бутилфенил	НСI	76,8±9,06*	2,5±0,50*
6	ЗДМ-96		 4-метоксифенил	2НСI	32,8±21,52	2,0±0,81
7	ЗДМ-97		 4-аминофенил	2НСI	22,3±20,16	1,6±1,28
8	ЗДМ-98		 4-бензилоксифенил	-	13,8±11,11	0,8±0,65
9	ЗДМ-99		 4-(4-нитрофенокси)фенил	-	13,7±10,07	1,5±1,02

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

№	Шифр	 C^2, C^3 -хиноксалин		HX	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
10	ЗДМ-6		CH_3 метил	HCl	15,2±10,60	0,5±0,34
11	ЗДМ-7	 2-метил-(4,5-диметоксифенил)-N,N-диметилпропан-2-амин	 4-бромфенил	HCl	13,8±7,58	0,8±0,30
12	ЗДМ-84		 4-бромфенил	-	21,3±10,68	0,6±0,33
13	ЗДМ-85		 бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-3(4 <i>H</i>)-он	-	10,8±7,57	0,83±0,65
14	ЗДМ-8	 2-метил-(1 <i>H</i> -индол-3-ил)-N-метилэтан-1-амин	 4-бромфенил	-	13,5±8,63	1,6±0,98
15	ЗДМ-86	 2-метил(фенил-N,N-диметилпропан-2-амин)	 3,4-дихлорфенил	HBr	19,3±8,44	1,6±0,49

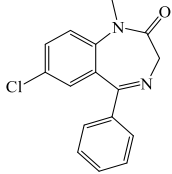
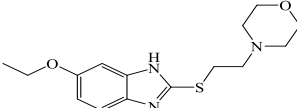
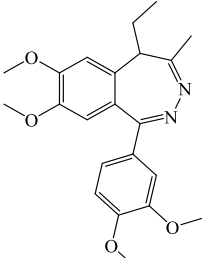
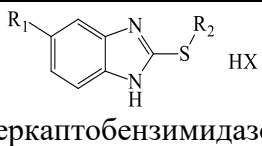
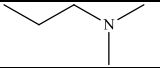
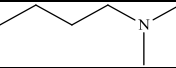
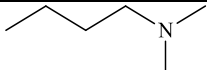
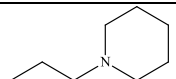
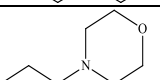
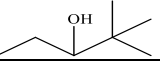
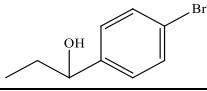
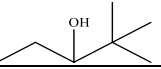
Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

3.2.2 Производные 2-меркаптобензимидазола

Производные 2-меркаптобензимидазола под лабораторными шифрами АЖ по результатам проведенного исследования уровня анксиолитической активности продемонстрировали различный уровень противотревожного действия. В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» среди бензимидазолсодержащих производных наиболее выраженная активность была отмечена у соединения АЖ-57, являющееся дигидрохлоридом 5-метил-2-[(2-морфолино)-этилтио]бензимидазола. Так, при введении экспериментального вещества время нахождения мышей в открытом рукаве установки увеличивалось в 3 раза в сравнении с показателями животных, получавших растворитель, а также превосходило эффекты диазепама и афобазола в 1,1 и 1,2 раза. Вещество под лабораторным шифром АЖ-57 уступало тофизопаму по вышеуказанному показателю, а по количеству выходов в открытый рукав находилось на уровне диазепама ($p < 0,05$). Соединения под лабораторными шифрами АЖ-62 (5-метокси-2-[2-(4-бромфенил)-гидроксиэтилтио]бензимидазол) и АЖ-55 (дигидробромид 5-этокси-2-[(3-диметиламино)-пропилтио]бензимидазола) по уровню проявляемого эффекта не уступали производному бензодиазепина диазепаму, превосходя афобазол, но уступая тофизопаму по времени, проведенному грызунами в открытом рукаве лабиринта ($p < 0,05$). Показатель количества выходов в открытый рукав был менее информативен, находясь между значениями двух референтных препаратов - диазепама и афобазола. Для производных 2-меркаптобензимидазола под шифрами АЖ-53 и АЖ-61 характерен умеренный противотревожный эффект, уступающий фабомотизолу в 1,2 раза по показателю времени нахождения в открытом рукаве. В то же время, при введении соединения АЖ-53 характерно увеличение количества выходов животных в открытый рукав до уровня, уступающего тофизопаму в 1,2 раза. Таким образом, противотревожный эффект этих субстанций можно охарактеризовать как умеренный. При введении соединений АЖ-54, АЖ-56 и АЖ-53 паттерны животных, сопряженные с их тревожным поведением в лабиринте, не были изменены, а регистрируемые

значения соответствовали, либо были статистически незначимы по сравнению с показателями контрольной группы мышей (таблица 3.3).

Таблица 3.3 - Анксиолитический эффект производных 2-меркаптобензимидазола (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

Соединение		Химическая структура			Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
Контроль		-			27,0±6,06	1,3±0,21
Диазепам (1 мг/кг)					69,2±7,20*	3,2±0,60*
Афобазол (5 мг/кг)					47,7±7,17*	2,2±0,31
Тофизопам (2 мг/кг)					102,2±3,62*	5,3±0,49*
№	Шифр	 меркаптобензимидазол			Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂	HX		
1	АЖ-53	-O-CH ₃		2HCl	53,3±5,16*	4,3±0,33*
2	АЖ-54	-O-CH ₃		2HBr	17,8±3,28	1,1±0,16
3	АЖ-55	-O-CH ₂ -CH ₃		2HBr	69,8±5,90*	3,1±0,30*
4	АЖ-56	-CH ₃		2HCl	31,7±6,51	1,6±0,33
5	АЖ-57	-CH ₃		2HCl	80,5±6,01*	3,8±0,60*
6	АЖ-61	-		HCl	55,0±10,25*	2,8±0,47*
7	АЖ-62	-O-CH ₃		HCl	77,8±14,80*	2,6±0,55
8	АЖ-63	-O-CH ₃		HCl	40,3±6,97*	3,0±0,36*

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

3.2.3 Производные 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазола

Всего в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» было протестировано 34 производных diaзепино[1,2-*a*]бензимидазола. Соединения проявили различный уровень анксиолитической активности. Наиболее высокий уровень эффекта был зарегистрирован после введения животным соединений 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазола гидробромида (ДАБ-19) и 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2*a*]бензимидазола дигидрохлорида (ДАБ-21). После введения субстанций отмечалось повышение времени пребывания животных в открытых рукавах лабиринта в 4,5 и 4,2 раза, а количество выходов в рукава возрастало в 2,3 и 3,1 раза в сравнении с группой контроля. Сравнивая полученные результаты с показателями препаратов сравнения, стоит отметить, что эффекты веществ ДАБ-19 и ДАБ-21 в дозе, эквимолярной diaзепаму (1 мг/кг), превосходили эффекты как афобазола, так и diaзепамы:

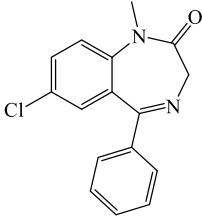
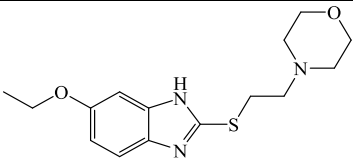
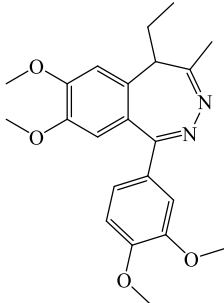
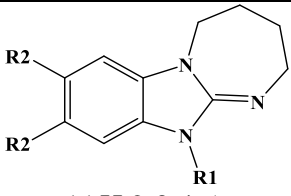
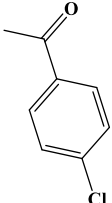
1. По времени нахождения в открытом рукаве соединение ДАБ-19 превосходило афобазол (5 мг/кг) в 2,5 раза, а diaзепам (1 мг/кг) в 1,7 раза; соединение ДАБ-21 превосходило афобазол (5 мг/кг) в 2,4 раза, а diaзепам (1 мг/кг) в 1,6 раза;

2. По показателю количества выходов в открытый рукав для вещества ДАБ-19 статистически значимых различий с показателями группы афобазола и diaзепамы выявлено не было; эффект соединения ДАБ-21 достоверно превосходил таковой афобазола и был несколько выше показателей diaзепамы.

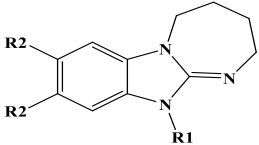
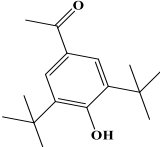
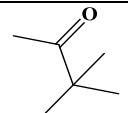
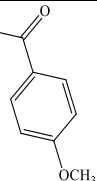
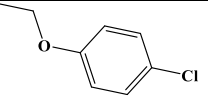
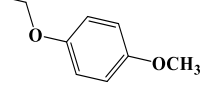
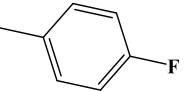
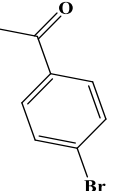
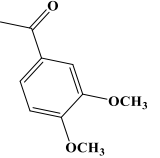
Отдельно стоит отметить, что только под влиянием субстанций ДАБ-19 и ДАБ-21 было повышено время пребывания мышей в открытом рукаве относительно значений группы, получавшей тофизопам. Помимо двух указанных соединений среди производных diaзепино[1,2-*a*]бензимидазола можно выделить 5 веществ содержащих 4-*трет*-бутилацил (ДАБ-7), 4-метоксифенацил (ДАБ-9), 3,4-дигидроксibenзил (ДАБ-18), 2-(2,2-диэтиламино)этил (ДАБ-20), морфолинометил (ДАБ-23) в положении 11, которые повышали время пребывания грызунов в открытом рукаве в среднем до 85-95 с из 300 с

наблюдения. Показанные значения превосходили эффекты диазепама в поисковой дозе, тем не менее статистических различий при математической обработке данных показано не было. Соединения ДАБ-7, ДАБ-9, ДАБ-18, ДАБ-20 и ДАБ-23 можно отнести к активным веществам. Однако, указанные соединения по-разному влияли на активность выхода в открытый рукав: наиболее активным было соединение ДАБ-23 ($5,1 \pm 1,30$), на втором месте - ДАБ-20 ($5,0 \pm 1,54$), ДАБ-7 ($3,8 \pm 0,70$). Для еще двух соединений отмечались эффекты, сопоставимые с влиянием диазепама – ДАБ-13 и ДАБ-30. Среди прочих производных диазепино[1,2-*a*]бензимидазола отмечено значительное количество соединений, несколько повышавших один из регистрируемых показателей противотревожной активности, но статистически значимых различий с показателями контрольных значений эффекты субстанций не имели - ДАБ-4, ДАБ-5, ДАБ-16, ДАБ-17, ДАБ-22, ДАБ-24, ДАБ-27, ДАБ-28, ДАБ-32, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-38 и ДАБ-45. Для 9 соединений отмечены эффекты, сравнимые с уровнем противотревожной активности афобазола - ДАБ-1, ДАБ-15, ДАБ-26, ДАБ-29, ДАБ-36, ДАБ-40, ДАБ-41, ДАБ-43 и ДАБ-44. Для 2 соединений (содержащих в положении 11 (метоксифенокс)этил (ДАБ-14) и метокси-4-фторфенил (ДАБ-25) показаны эффекты, которые позволяют предположить их анксиогенный потенциал, в частности, экспериментальные субстанции после введения приводили к достоверному снижению регистрируемых показателей в сравнении с группой контроля в 11,7 и 8,2 раза (таблица 3.4).

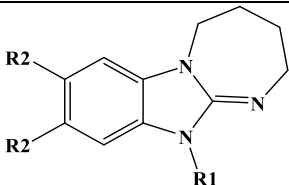
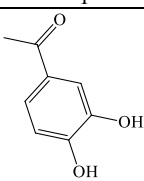
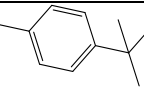

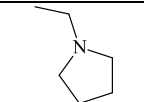
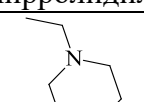
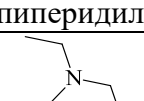
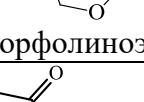
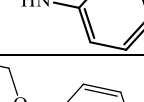
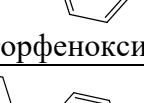
Таблица 3.4 - Анксиолитический эффект производных 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

Соединение		Химическая структура		Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ	
Контроль		-		24,0±6,05	1,3±0,21	
Диазепам (1 мг/кг)				69,2±7,20*	3,2±0,60*	
Афобазол (5 мг/кг)				47,7±7,17*	2,2±0,31	
Тофизопам (2 мг/кг)				102,2±3,62*	5,3±0,49*	
№	Шифр	 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол		НХ	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
1	ДАБ-1	CH ₃ метил	-	НІ	46,5±9,92	1,6±0,33
2	ДАБ-4		-	НВr	38,3±12,65	1,3±0,42

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

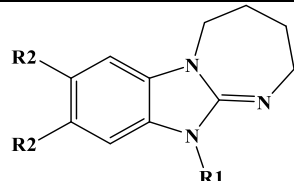
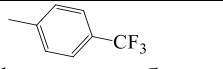
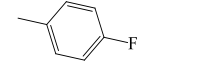
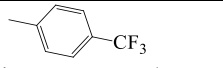
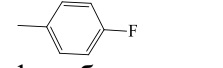
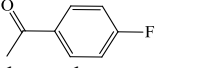
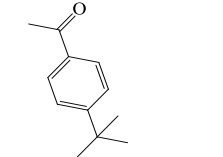
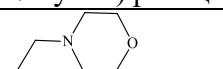
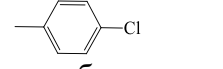
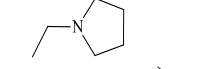
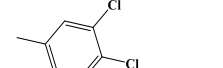
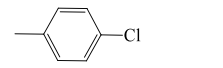
№	Шифр	 11H-2,3,4,5- тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2- а]бензимидазол		nX	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
3	ДАБ-5	 3,5- <i>т</i> рет-бутил-4- гидроксифенацил	H	HBr	47,3±17,16	2,1±0,47
4	ДАБ-7	 3,3-диметилбутан-2-он	H	HBr	80,8±9,54*	3,8±0,70*
5	ДАБ-9	 4-метоксифенацил	H	HBr	81,5±19,56*	2,1±0,30
6	ДАБ-13	 4-(хлорфенокси)этил	H	HCl	65,7±10,26*	4,3±1,17*
7	ДАБ-14	 4-(метоксифенокси)этил	H	HBr	2,3±1,60*	0,5±0,22*
8	ДАБ-15	 4-фторбензил	H	HCl	53,7±2,14*	1,3±0,33
9	ДАБ-16	 4-бромфенацил	H	HBr	49,7±14,65	1,2±0,47
10	ДАБ-17	 3,4-диметоксифенацил	H	HBr	33,8±10,79	1,3±0,42

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю (p<0,05, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

№	Шифр	 11H-2,3,4,5- тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2- а]бензимидазол		nX	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
11	ДАБ-18		H	HBr	94,8±19,04*	2,1±0,60
12	ДАБ-19	 4- <i>трет</i> -бутилбензил	H	HBr	120,8±10,35*	3,0±0,73
13	ДАБ-20	 2-(2,2-диэтиламино)этил	H	2HCl	85,8±19,69*	5,0±1,54*
14	ДАБ-21	 2-(1-пирролидил)этил	H	2HCl	114,7±8,70*	4,0±0,44*
15	ДАБ-22	 2-(1-пиперидил)этил	H	2HCl	23,0±14,60	0,3±0,21*
16	ДАБ-23	 4-морфолиноэтил	H	2HCl	89,2±11,52*	5,1±1,30*
17	ДАБ-24		H	HCl	41,2±14,92	1,2±0,47
18	ДАБ-25	 4-(фторфенокси)этил	H	HCl	3,3±2,39*	0,5±0,22*
19	ДАБ-26	 4-(<i>трет</i> -бутилфенокси)этил	H	HBr	53,5±15,90	2,1±0,70

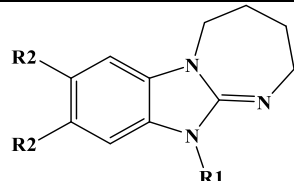
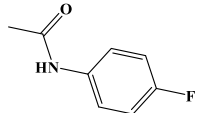
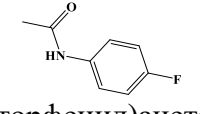
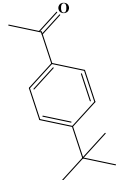
Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю (p<0,05, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Продолжение таблицы 3.4

№	Шифр	 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол		nX	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
20	ДАБ-27	 4-трифторметилбензил	H	HCl	16,3±5,61	1,5±0,34
21	ДАБ-28	 4-фторбензил	CH ₃	HCl	22,7±6,56	1,6±0,33
22	ДАБ-29	 4-трифторметилбензил	CH ₃	HCl	41,8±6,61	2,8±0,40*
23	ДАБ-30	 4-фторбензил	H	HCl	64,5±15,39	2,0±0,51
24	ДАБ-32	 4-фторфенацил	CH ₃	HBr	49,0±26,40	1,8±0,70
25	ДАБ-33	 4-(<i>трет</i> -бутил)фенацил	CH ₃	HBr	17,7±5,80	1,3±0,42
26	ДАБ-34	 4-морфолиноэтил	CH ₃	2HCl	9,2±9,17	0,5±0,49
27	ДАБ-35	CH ₂ COOH ацетат	CH ₃	-	23,7±4,27	1,7±0,49
28	ДАБ-36	 4-хлорбензил	CH ₃	HCl	45,3±4,41*	1,8±0,47
29	ДАБ-38	 2-(1-пирролидил)этил	CH ₃	2HCl	7,5±7,50	0,2±0,16*
30	ДАБ-40	 3,4-дихлорбензил	H	HCl	46,2±3,26*	1,8±0,30
31	ДАБ-41	 4-хлорбензил	H	HCl	47,5±11,74	3,3±0,42*

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю (p<0,05, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Окончание таблицы 3.4

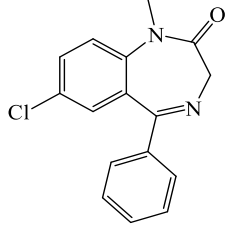
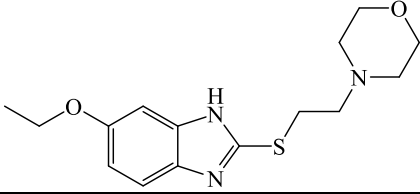
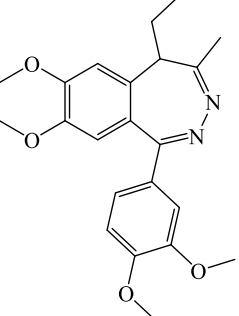
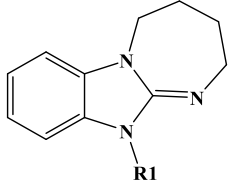
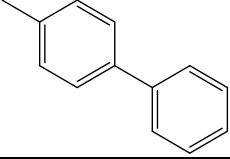
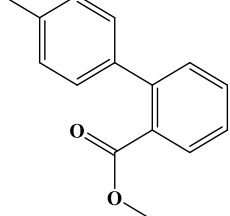
№	Шифр	 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол		nX	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂			
32	ДАБ-43	 (4-фторфенил)ацетамид	H	HCl	41,0±8,50	2,5±0,50
33	ДАБ-44	 (4-фторфенил)ацетамид	CH ₃	HCl	44,7±6,68*	3,6±0,67*
34	ДАБ-45	 4-трет-бутилфенил	H	HBr	40,2±18,75	1,8±0,83

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

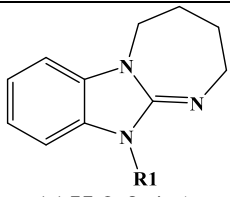
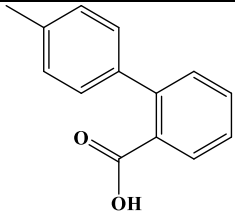
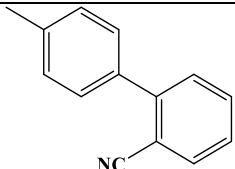
Бифенилметилзамещенные 2,3,4,5-тетрагидро-11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолы. Всего было изучено 4 бифенилметилзамещенных производных 2,3,4,5-тетрагидро-11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола. Изученные соединения проявляют различный уровень анксиолитической активности. Наибольшую же анксиолитическую активность продемонстрировал гидробромид 4'-(2,3,4,5-тетрагидро-11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол-11-илметил)бифенил-2-карбоновая кислота под шифром БИФ-66. Соединение БИФ-66 практически в 3 раза увеличивало время пребывания мышей в открытом рукаве лабиринта и количестве выходов в него в сравнении с контрольными значениями. По своей активности оно также не уступало препарату сравнения diaзепаму в дозе 1 мг/кг, который увеличивал время нахождения мышей в светлом рукаве и количество выходов в него в 2,5 раза. Экспериментальная субстанция была в 1,3 раза слабее тофизопама, но несколько превосходила по своим противотревожным

свойствам афобазол. После введения животным гидробромида метилового эфира 4'-(2,3,4,5-тетрагидро-11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазол-11-илметил)бифенил-2-карбоновой кислоты под лабораторным шифром БИФ-60 отмечался некоторый анксиогенный эффект. Так, основные показатели - количество выходов в открытый рукав и время нахождения в открытом рукаве - были ниже показателей контрольной группы животных и, в связи с основной целью исследования по поиску веществ с противотревожным действием, интереса для дальнейшего исследования вещество не представляло. Для животных, получавших соединение гидробромид 4'-(2,3,4,5-тетрагидро-11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазол-11-илметил)бифенил (БИФ-59) отмечался противотревожный эффект на уровне афобазола в дозе 5 мг/кг, в то же время, исследуемое вещество уступало производным diaзепинов (дiazепаму и тофизопаму). Введение соединения БИФ-69 (гидробромид 4'-(2,3,4,5тетрагидро-11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазол-11-илметил)бифенил-2-карбонитрил) приводило к развитию умеренного противотревожного действия: эффект вещества в 1.4 раза уступал diaзепаму и был несколько ниже эффектов афобазола по показателю времени нахождения в открытом рукаве. В то же время, животные практически в 1,5 раза чаще выходили в светлый рукав в сравнении с группой, получавшей афобазол, что соответствует уровню значений diaзепамы (таблица 3.5).

Таблица 3.5 - Анксиолитический эффект производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

Соединение		Химическая структура	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ	
Контроль		-	27,0±6,06	1,3±0,21	
Диазепам (1 мг/кг)			69,2±7,20*	3,2±0,60*	
Афобазол (5 мг/кг)			47,7±7,17*	2,2±0,31	
Тофизопам (2 мг/кг)			102,2±3,62*	5,3±0,49*	
№	Шифр	 11 <i>H</i> -2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ	
		R ₁			nX
1	БИФ-59		НВr	61,3±4,79*	2,6±0,42
2	БИФ-60		НВr	3,6±1,83*	1,0±0,44

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

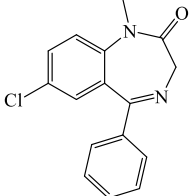
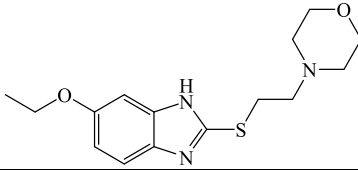
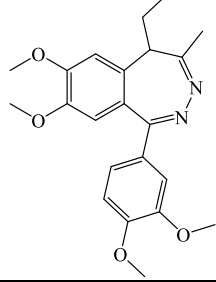
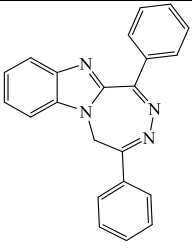
№	Шифр	 11H-2,3,4,5- тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2- а]бензимидазол		Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	nX		
3	БИФ-66		HBr	77,8±9,74*	4,0±0,85
4	БИФ-69		HBr	50,8±6,64*	3,3±0,42

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

3.2.4 Производные 1,4-дифенил-5H-[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазола

Производное триазепина, включённое в исследование, представляло собой 1,4-дифенил-5H-[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазол. Вещество под шифром РД-8 значительно увеличивало показатели, отражающие противотревожное действие, в частности, увеличивалось время пребывания в светлом рукаве в 3,1 раза в сравнении со значениями контрольной группы и в 1,7 раза - с результатами группы афобазола. По указанному параметру экспериментальная субстанция несколько превосходила и диазепам в дозе 1 мг/кг: по показателю количества выходов в открытый рукав вещество работало на уровне диазепама ($p < 0,05$) (таблица 3.6).

Таблица 3.6 - Анксиолитический эффект производных триазепина (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

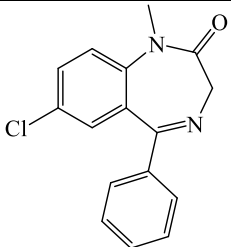
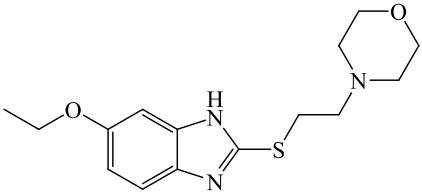
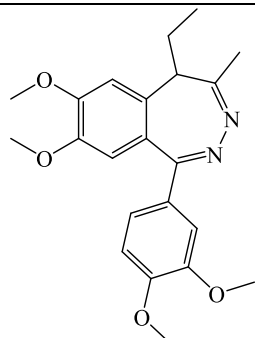
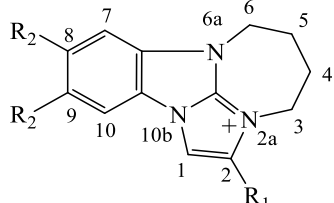
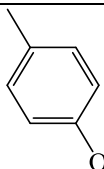
Соединение		Химическая структура	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
Контроль		-	27,0±6,06	1,3±0,21
Диазепам (1 мг/кг)			69,2±7,20*	3,2±0,60*
Афобазол (5 мг/кг)			47,7±7,17*	2,2±0,31
Тофизопам (2 мг/кг)			102,2±3,62*	5,3±0,49*
№	Шифр	Химическая структура	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
14	РД-8	 1,4-дифенил-5H- [1,2,5]триазепино[5,4- а]бензимидазол	82,8±7,98*	3,3±0,76

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

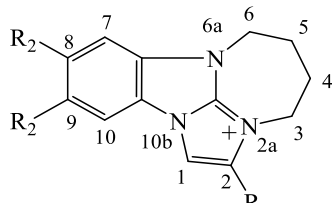
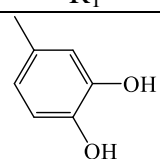
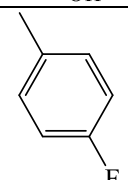
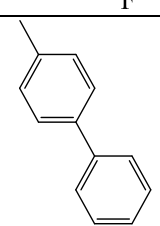
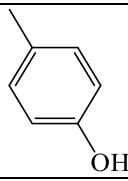
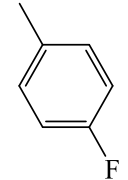
3.2.5 Производные 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума

Среди производных 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума наиболее высокий уровень противотревожного действия отмечался для соединения содержащего 4-фторфенил во 2 положении (ДАБ-47). Так, по уровню проявляемого эффекта вещество сопоставимо с препаратами сравнения афобазолом и диазепамом и превосходит показатели группы контроля в 2,9 раза по времени, проведенному в открытом рукаве. По количеству выходов в открытый рукав эффекты вещества сопоставимы с эффектами тофизопама в дозе 2 мг/кг. Для иных производных указанного класса отмечается существенная особенность, связанная с невысокими показателями времени пребывания в открытом рукаве, в то время как количество выходов (в особенности для соединений ДАБ-46, ДАБ-48, ДАБ-49 и ДАБ-50) превосходит контрольные показатели. Полученные результаты позволяют отнести соединения ДАБ-46, ДАБ-48, ДАБ-49 и ДАБ-50 к группе веществ, проявляющих слабую, либо умеренную противотревожную активность (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Анксиолитический эффект производных 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

Соединение		Химическая структура	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ		
Контроль		-	24,0±6,05	1,3±0,21		
Диазепам (1 мг/кг)			69,2±7,20*	3,2±0,60*		
Афобазол (5 мг/кг)			47,7±7,17*	2,2±0,31		
Тофизопам (2 мг/кг)			102,2±3,62*	5,3±0,49*		
№	Шифр	 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азуле n-2а-иум	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ		
		R ₁			R ₂	X
1	ДАБ-46		H	Br	28,8±6,30	2,3±0,42

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

№	Шифр	 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b- триазабензо[а]циклопента[сd]азуле n- 2а-иум			Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂	X		
2	ДАБ-37		H	Br	32,6±20,00	1,3±0,49
3	ДАБ-47		H	Br	78,8±16,73*	7,0±1,57
4	ДАБ-48		H	Br	39,5±13,62	2,8±0,47
5	ДАБ-49		CH ₃	Br	31,3±8,37	3,5±1,05
6	ДАБ-50		CH ₃	Br	19,0±12,86	3,1±0,87

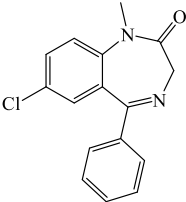
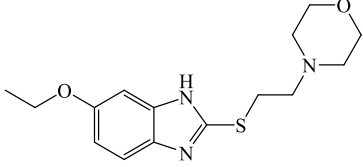
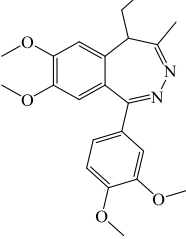
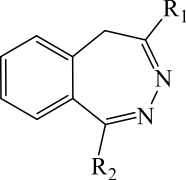
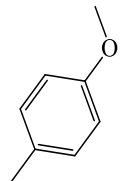
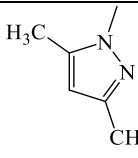
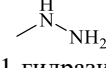
Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю (p<0,05, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

3.2.6 Производные 5H-2,3-бензодиазепина

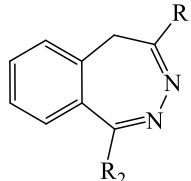
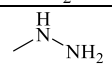
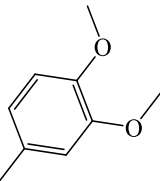
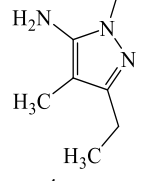
Иной группой соединений под шифрами РД были производные 5H-2,3-бензодиазепина, всего было изучено 4 такие структуры. Три соединения, содержащие 1-гидразил (РД-9, РД-1) и 3-этил-4-метил-1H-пиразол-5-амин (РД-7) в 1 положении, оказали умеренный противотревожный эффект: при введении животным оказываемое ими анксиолитическое действие уступало афобазолу и диазепаму в 1,2-1,4 раза по показателю времени в светлом рукаве, но увеличивали указанный параметр в сравнении с контрольными значениями в 1,8-2,2 раза.

Соединение с 3,5-диметил-1H-пиразол-1-ильным радикалом в 1 и 4-метоксифенильным заместителем в 4 положении (РД-6) было наиболее активным среди изученных производных 5H-2,3-бензодиазепина, превосходя по уровню противотревожной активности афобазол (1,6 раза) и не уступая диазепаму (таблица 3.8).

Таблица 3.8 - Анксиолитический эффект производных 5H-2,3-бензодиазепина (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

Соединение		Химическая структура	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ	
Контроль		-	27,0±6,06	1,3±0,21	
Диазепам (1 мг/кг)			69,2±7,20*	3,2±0,60*	
Афобазол (5 мг/кг)			47,7±7,17*	2,2±0,31	
Тофизопам (2 мг/кг)			102,2±3,62*	5,3±0,49*	
№	Шифр	 5H-2,3-бензодиазепин	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ	
		R ₁			R ₂
1	РД-6	 4-метоксифенил	 3,5-диметил-1H-пиразол-1-ил	74,1±7,46*	4,3±1,02*
2	РД-9	4-метоксифенил	 1-гидразил	59,5±22,23	2,3±0,95

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

№	Шифр	 5H-2,3-бензодиазепин		Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁	R ₂		
3	РД-1		 1-гидразил	52,8±16,69	3,5±0,88*
4	РД-7	 3,4-диметоксифенил	 3-этил-4-метил-1H-пиразол-5-амин	49,5±14,43	3,8±0,90*

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

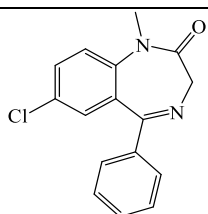
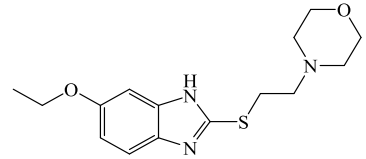
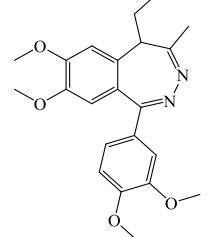
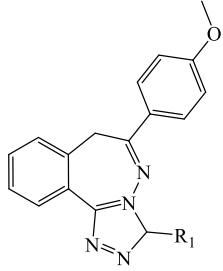

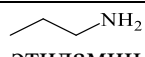

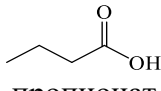

3.2.7 Производные 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина

Было протестировано 9 производных 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина. Как и для ранее изученных субстанций, отмечен достаточно широкий диапазон противотревожной активности. Так, было обнаружено высокоактивное соединение под лабораторным шифром РД-4 (3-(2-фурил)-6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин).

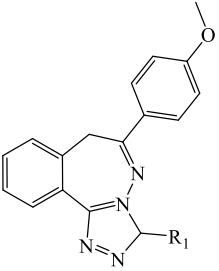
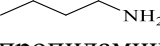
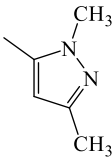

Экспериментальное вещество выражено снижало чувство тревоги и страха мышей, по уровню проявляемого действия статистически незначимо превосходя эффекты диазепам и афобазол. Помимо РД-4, для указанной группы производных 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина было найдено еще 2 соединения, не уступающих эффектам диазепам и афобазол, но уступающих результатам группы, получавшей тофизопам, по обоим регистрируемым показателям. Ими стали соединения РД-12 и РД-13, являющиеся 3-(1,3-диметил-1H-пиразол-5-ил)-6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепином и 6-(4-метоксифенил)-3-метил-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепином. К группе активных соединений можно отнести также {[6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин-3-ил]метил}амин

(РД-14), {2-[6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин-3-ил]этил}амин (РД-3) и 3-[6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин-3-ил]пропил}амин (РД-11). Для веществ характерен диапазон эффектов, сравнимый с диазепамом или афобазолом, но уступающий тофизопаму. После введения животным соединений РД-5 и РД-10 регистрировалось некоторое повышение времени, которое животные проводили в открытом рукаве установки, однако на этапе статистической обработки полученные результаты не имели значимых различий с группой контрольных значений (таблица 3.9).

Таблица 3.9 - Анксиолитический эффект производных 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина (в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$

Соединение		Химическая структура	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
Контроль		-	27,0±6,06	1,3±0,21
Диазепам (1 мг/кг)			69,2±7,20*	3,2±0,60*
Афобазол (5 мг/кг)			47,7±7,17*	2,2±0,31
Тофизопам (2 мг/кг)			102,2±3,62*	5,3±0,49*
№	Шифр	 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁		
1	РД-2	 этил	56,2±4,91*	2,0±0,37
2	РД-3	 этиламин	61,0±16,34	2,7±0,56
3	РД-4	 2-фурил	83,6±8,97*	5,8±0,65*
4	РД-5	 пропионат	44,8±6,86	1,7±0,33
5	РД-10	 фенил	34,0±7,42	1,7±0,42

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

№	Шифр	 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин	Время в светлом рукаве ПКЛ (с)	Число выходов в светлый рукав ПКЛ
		R ₁		
6	РД-11	 пропиламин	54,5±18,8	2,2±0,70
7	РД-12	 1,3-диметил-1H-пиразол-5-ил	78,2±10,45*	5,6±0,98*
8	РД-13	CH ₃ метил	69,2±16,66*	5,8±1,58*
9	РД-14	 метиламин	76,7±7,53*	3,5±0,92

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю (p<0,05, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

3.2.8 Заключение

По результатам проведенного исследования представляется целесообразным систематизировать полученные эффекты соединений, сообразно их химическим классам и проявляемому уровню противотревожного действия. В основе эмпирического анализа использованы относительные уровни анксиолитического эффекта, сопряженные с уровнем проявляемой активности у препаратов сравнения (рисунок 3.1):

- 1) Неактивные соединения – регистрируемые показатели ниже, либо сопоставимы с результатами контрольной группы;
- 2) Умеренно активные соединения – один или оба регистрируемых показателя превосходят уровень контрольных значений и близки к эффектам афобазола в дозе 5 мг/кг;

3) Активные соединения – уровень активности сопоставим с эффектами диазепама в дозе 1 мг/кг;

4) Высокоактивные соединения – экспериментальные субстанции по уровню проявляемой активности сопоставимы с эффектами тофизопама в дозе 2 мг/кг.

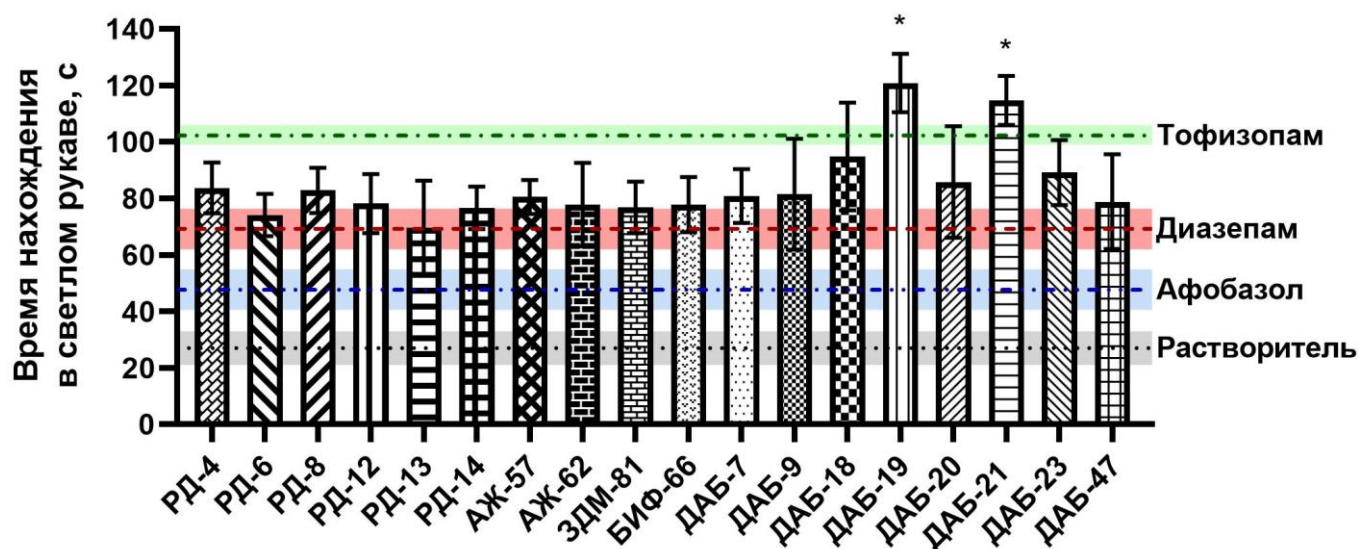


Рисунок 3.1 – Сравнение уровня анксиолитической активности наиболее активных соединений по результатам первого этапа исследования (в дозе, эквивалентной диазепаму 1 мг/кг) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», в/ж, мыши, $M \pm m$.

Примечание: * - различие достоверно по отношению к диазепаму в дозе 1 мг/кг

Всего было изучено 81 соединение. Для 57% веществ показано анксиолитическое действие в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» различной степени выраженности. Два соединения из группы производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-а]бензимидазола (ДАБ-19 и ДАБ-21) продемонстрировали эффект, соответствующий высокоактивным соединениям, это составило практически 6% от всего количества протестированных производных диазепино[1,2-а]бензимидазола или 2,5% от всего пула исследованных соединений (рисунок 3.2).

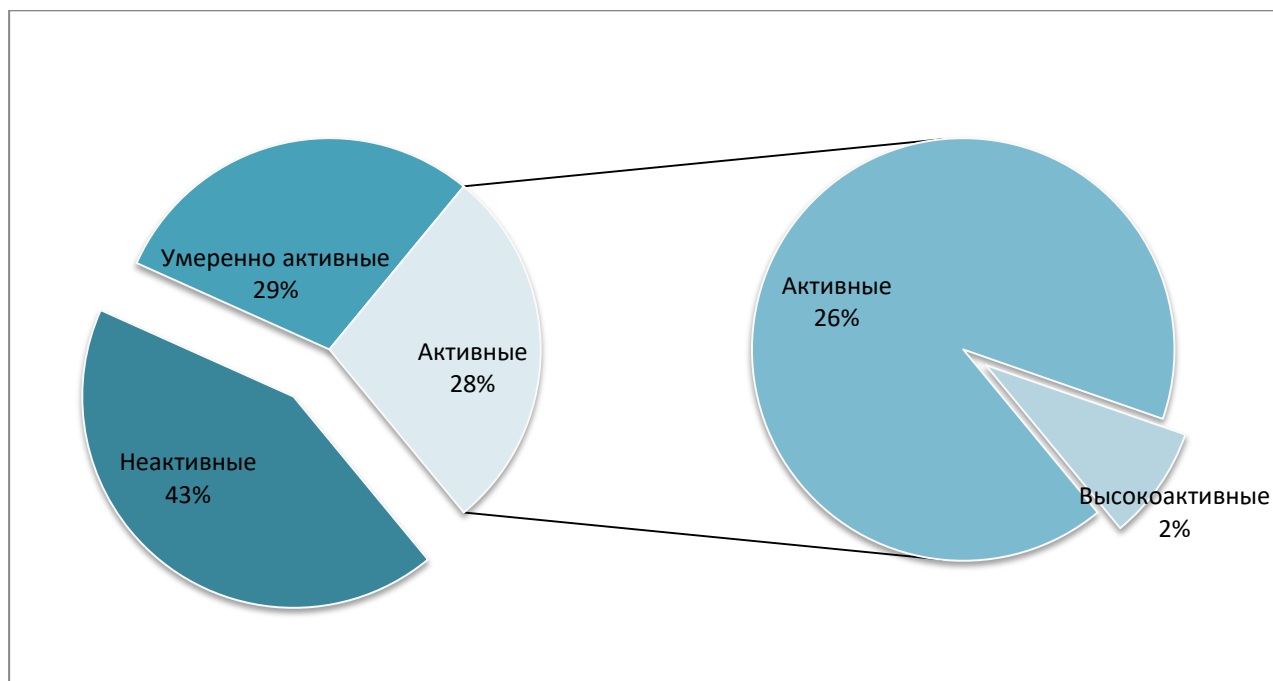


Рисунок 3.2 – Уровень анксиолитической активности среди изученных производных различных химических классов

При более детальном изучении полученных результатов можно отметить, что среди всех изученных производных бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов наиболее перспективным классом с позиции поиска «активные/неактивные» соединения являются производные 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина (таблица 3.10). Однако, в количественном соотношении наиболее перспективной была группа соединений, в основе которых лежал диазепино[1,2-а]бензимидазольный каркас. Так, 9 из 18 соединений, не уступающие по уровню анксиолитической активности диазепаму в дозе 1 мг/кг, относились к производным указанной химеризованной структуры двух привилегированных химических классов. Также, только для производных диазепино[1,2-а]бензимидазола обнаружены соединения с высоким уровнем противотревожного действия, не только превосходящие диазепам, но и не уступающие тофизопаму. Наименее перспективным классом для дальнейшего поиска соединений с противотревожным действием из изученных выше были производные 1,4-бензодиазина (хиноксалины), среди которых только каждое пятое соединение проявило искомый вид активности.

Таблица 3.10 - Сводные данные по перспективности изучения скаффолдов

№	Наименование	Количество умеренно активных субстанций	Количество активных субстанций	Количество высоко активных субстанций	Уровень перспективности класса
1	C ² ,C ³ -хиноксалин	1/15	2/15	0	7
2	2-меркаптобензимидазол	3/8	3/8	0	5
3	11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазол	10/38	9/38	2/38	1
4	1,4-дифенил-5H-[1,2,5]триазепино[5,4-а]бензимидазол	0	1/1	0	2
5	3,4,5,6-тетрагидро-2a,6a,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2a-иум	1/6	1/6	0	6
6	5H-2,3-бензодиазепин	2/4	1/4	0	4
7	7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин	4/9	4/9	0	3

Таким образом, осуществлен поиск анксиолитической активности среди 81 производных бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Для всех классов химических скаффолдов характерно проявление противотревожного действия. Для 21 соединения уровень проявляемого эффекта сопоставим с действием диазепама в дозе 1 мг/кг и афобазола в дозе 5 мг/кг. Наиболее активными соединениями были ДАБ-19 и ДАБ-21, являющиеся производными 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола, превосходящие по уровню проявляемого эффекта диазепам и афобазол, не уступающие показателям группы животных, получавших тофизопам в дозе 2 мг/кг.

3.3 Зависимость противотревожной активности изучаемых веществ от их структуры

Изученные соединения относились к различным скаффолдам, представляющим по своей структуре изостеры бензимидазола и бензодиазепина. В качестве одной из структур для изостеризации был использован бензимидазоловый скаффолд, представляющий собой кольцевой комплекс, состоящий из шестичленного бензольного кольца и пятичленного имидазольного кольца. Введение атома углерода как промежуточного звена и превращение пятичленного цикла в шестичленное пиразиновое кольцо является достаточно ярким примером изостеризации базовой структуры. Другим примером такого подхода является использование производных 2,3-бензодиазепина, а не классического 1,4-бензодиазепина, к производным которых относятся большинство используемых в современной медицине транквилизаторов (дiazepam, хлордiazепоксид, нитразепам, феназепам и другие). Учитывая полученные результаты, для производных бензодиазепина можно сделать вывод не только о соответствии представлениям об изостерах, но и об изостеризме с 1,4-бензодиазепином [Brown, 2012; Poo et al., 2016; Witkin et al., 2018]. В основе базовых фрагментов исследуемых соединений использованы привилегированные подструктуры: бензимидазола, diaзепина, хиноксалина и другие. Также, среди протестированных соединений можно выделить производные, являющиеся комбинацией сразу 2 привилегированных классов, а именно 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазолы. В случае с веществами под лабораторными шифрами БИФ - тремя (как пример комбинации бензимидазоловой, бензодиазепиновой и бифениловой подструктур). Производные дiazепино[1,2-а]бензимидазола являются новым химическим классом соединений: наиболее близкой к ним структурой являются производные имидазо[1,5-а][1,4]бензодиазепина, в том числе, мидазолам. В сравнении с ним, производные ДАБ, по расположению циклов в базовом фрагменте, имеют более линейную структуру.

3.3.1 Производные C²,C³-хиноксалина

Для противотревожного действия ряда новых производных C²,C³-хиноксалина отмечено, что наличие в C² положении 2-метил-(4,5-диметоксифенил)-N,N-диметилпропан-2-амин (ЗДМ-6, ЗДМ-7, ЗДМ-84 и ЗДМ-85), 2-метил-(1*H*-индол-3-ил)-N-метилэтан-1-амин (ЗДМ-8) или 2-метил(фенил-N,N-диметилпропан-2-амин) (ЗДМ-86) не приводило к значимому проявлению анксиолитического действия соответствующих субстанций. Искомая активность была отмечена лишь для соединений с 2-метил-(4,5-диметоксифенил)-N-метилэтан-1-амином в качестве R₁ заместителя (рисунок 3.3).

Среди производных с указанным заместителем в положении 2, наличие 3,4-дихлорфенила (ЗДМ-10) являлось причиной проявления анксиогенного действия указанного соединения, выраженного в снижении времени и числа выходов в открытые рукава ПКЛ относительно контроля. Замещение галогенсодержащих фрагментов структуры ЗДМ-10 на другие (ЗДМ-3, ЗДМ-96, ЗДМ-97, ЗДМ-98, ЗДМ-99) не являлось перспективным для искомой активности указанных соединений. Фенильные (ЗДМ-4) или 4-*трет*-бутилфенильные (ЗДМ-81) C³-замещенные хиноксалины проявили противотревожное действие на уровне диазепама. Можно отметить, что к росту анксиолитического потенциала новых соединений приводит неполярное строение радикала в положении 3 хиноксалинового скаффолда.

активности как при наличии заместителя в положении 5 (АЖ-63), так и без него (АЖ-61).

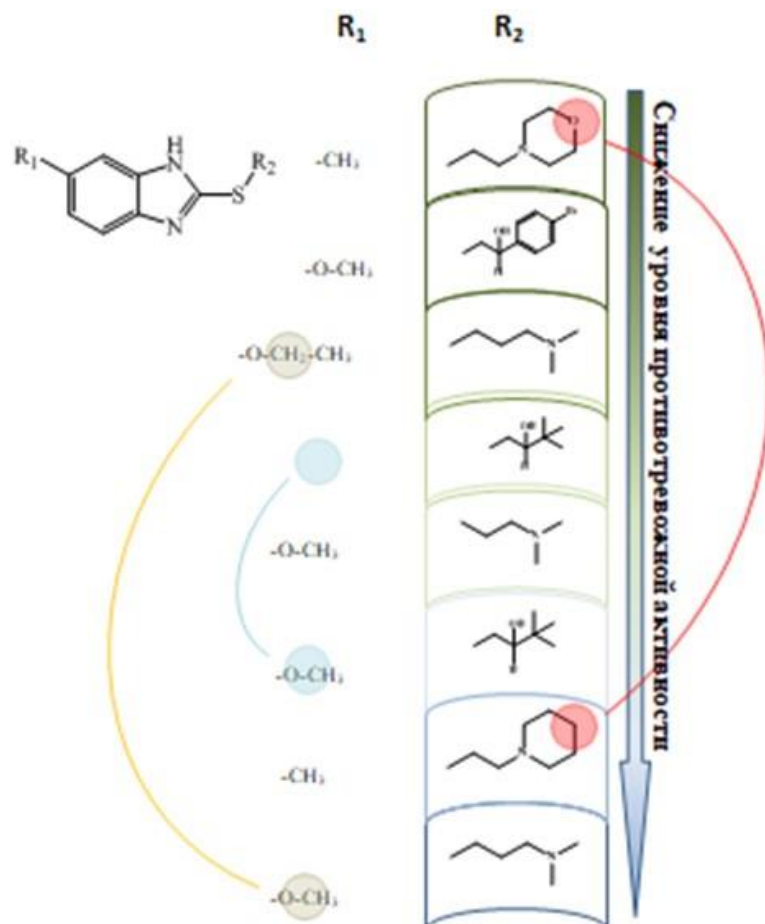


Рисунок 3.4 – Зависимость анксиолитической активности от химической структуры производных 2-меркаптобензимидазола

3.3.3 Производные 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола

Среди бифенильных производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола наиболее значимое анксиолитическое действие на уровне diaзепамa ($p < 0,05$) отмечено для собственно бифенил-замещенных (БИФ-59), а также бифенил-2-карбоновой кислоты (БИФ-66). При получении метилового эфира бифенил-2-карбоновой кислоты (БИФ-60) анксиолитическая активность значительно уменьшалась. Средний уровень эффекта, соответствующий препарату сравнения афобазолу, показан для карбонитрильного производного под шифром БИФ-69 (рисунок 3.5).

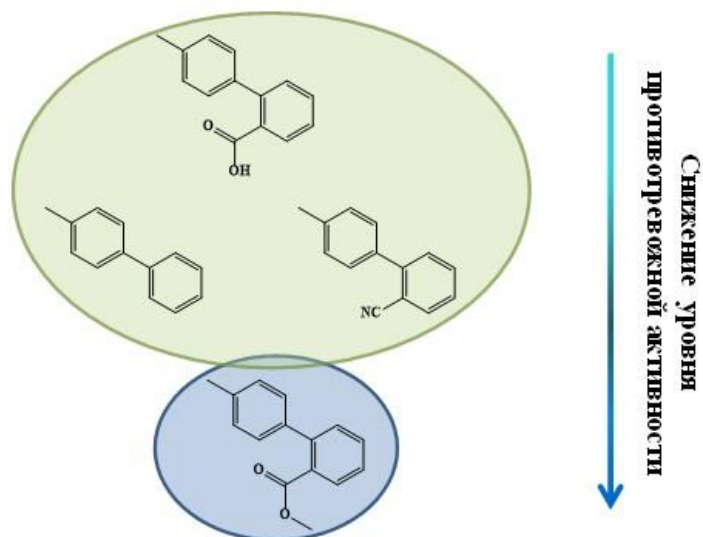


Рисунок 3.5 – Зависимость анксиолитической активности от химической структуры производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола (БИФ)

Наиболее выраженную анксиолитическую активность, статистически достоверно превосходящую показатели diaзепамa ($p < 0,05$), проявило соединение под шифром ДАБ-19, содержащее 4-*трет*-бутилфенильный фрагмент в положении R_1 diaзепино[1,2-а]бензимидазольного scaффолда (рисунок 3.6). Можно отметить, что дополнение линкерной части атомом кислорода в различных вариациях (ДАБ-26 и ДАБ-45) приводило к снижению уровня противотревожной активности указанных соединений. Более того, дополнительная метильная группа в R_2 положении, отличающая структуру соединения ДАБ-33 от ДАБ-45, приводила к еще большему убыванию искомой активности. Присутствие в положении 11 метильной или ацетильной группировки (ДАБ-1 и ДАБ-35) не приводило к выраженному противотревожному эффекту соответствующих субстанций. Достаточно высокую активность на уровне diaзепамa проявили соединения, содержащие в структуре *трет*-бутилацил (ДАБ-7) или 2-(2,2-диэтиламино)этил (ДАБ-20).

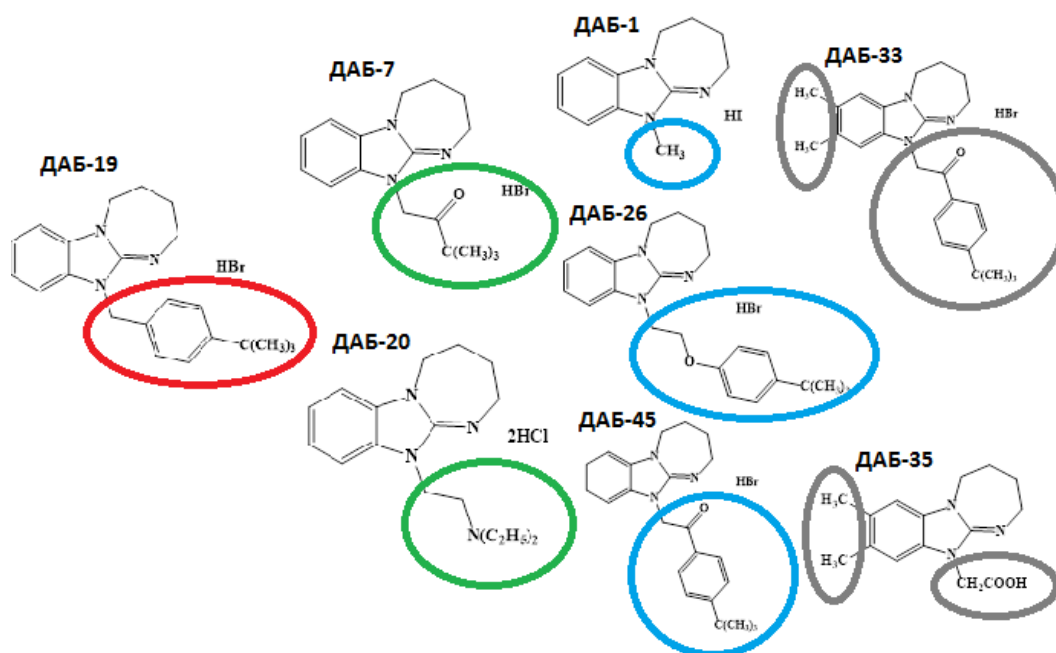


Рисунок 3.6 – Химические структуры наиболее активных производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола ДАБ-1, ДАБ-7, ДАБ-19, ДАБ-20, ДАБ-26, ДАБ-33, ДАБ-35, ДАБ-45

Также, одна из наиболее высоких активностей показана для соединения под шифром ДАБ-21 с 2-пирролидиноэтильным радикалом в положении 11. Возможно, наличие насыщенного азотсодержащего гетероцикла повышает анксиолитический потенциал соединений в случае пирролидинового (ДАБ-21) либо морфолиноэтильного (ДАБ-23) строения при условии отсутствия заместителей в положениях 8 и 9. В случае наличия метильных групп в указанных положениях (соединения ДАБ-34 и ДАБ-38) уровень анксиолитического действия соединений падал ниже контрольных значений. При замене пирролидина (ДАБ-21) на пиперидин (ДАБ-22) выраженность противотревожного действия соединений также значительно убывала. Вероятно, наличие более плоской пятичленной пирролидиновой структуры является более благоприятным фактором проявления искомой активности, нежели шестичленный пиперидин, характеризующийся большим числом стерических конформаций (рисунок 3.7).

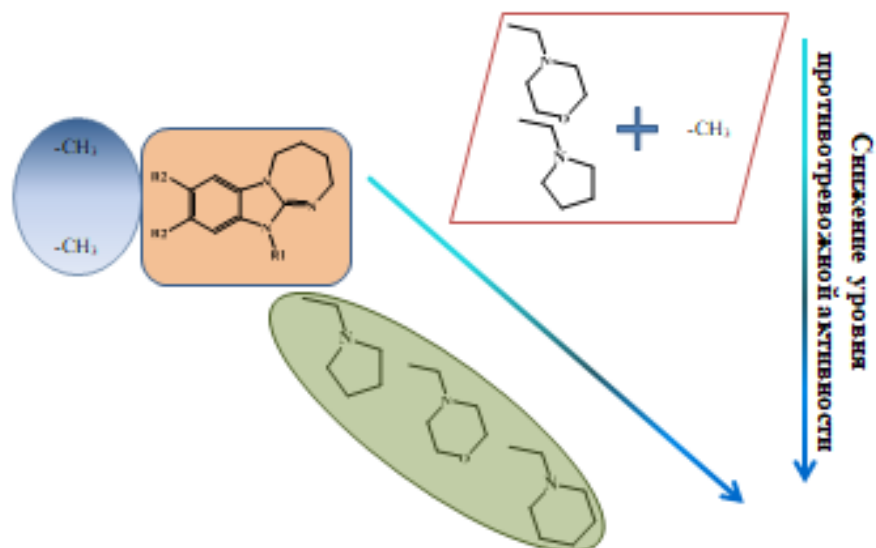


Рисунок 3.7 – Зависимость анксиолитической активности от химической структуры производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола ДАБ-21, ДАБ-22, ДАБ-23, ДАБ-34, ДАБ-38

Интересная закономерность была отмечена в ряду ДАБ-9 – ДАБ-17 – ДАБ-18, не содержащих заместителей в положениях 8 и 9. В положении 11 diaзепино[1,2-а]бензимидазольного scaффолда присутствие 4-метоксифенацильного фрагмента (ДАБ-9) приводило к выраженной противотревожной активности соединения на уровне diaзепамa ($p < 0,05$). Замена метоксигруппы на две гидроксильные (ДАБ-18) не влияла на уровень активности соединения. Дополнение структуры соединения ДАБ-9 еще одной метоксигруппой в положении 3 (ДАБ-17) уже значительно ухудшало потенциал соединения. Замена метоксигруппы в структуре соединения ДАБ-9 на атомы галогенов - хлора (ДАБ-4), брома (ДАБ-16) или фтора (ДАБ-32) - снижала уровень активности соединений относительно группы diaзепамa ($p < 0,05$). Средний уровень активности показан для соединения ДАБ-5, содержащего сильно разветвленный (2,3-дитрет-бутил-4-окси)фенацил (рисунок 3.8).

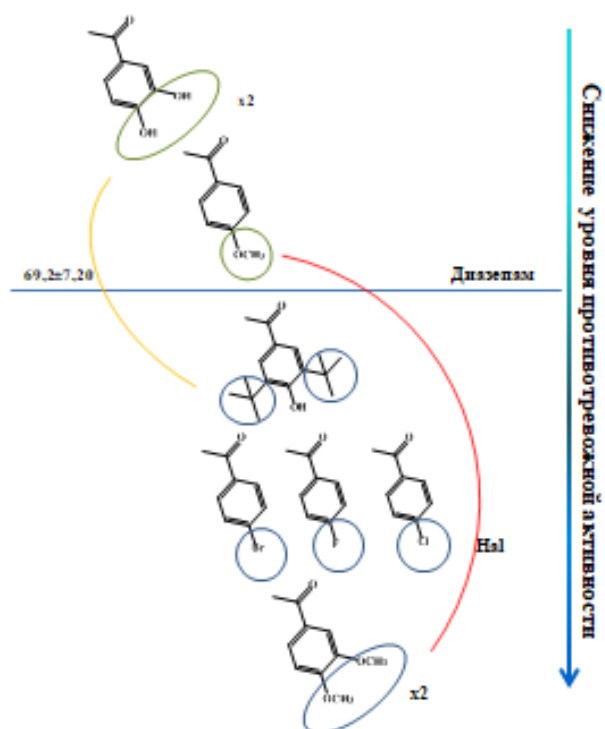


Рисунок 3.8 – Зависимость анксиолитической активности от химической структуры производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола ДАБ-4, ДАБ-5, ДАБ-9, ДАБ-16, ДАБ-17, ДАБ-18, ДАБ-32

Изменение радикала в положении 11 в diaзепино[1,2-а]бензимидазольном скаффолде, в том числе на различные комбинации фенильного фрагмента и галогенов в структурах ДАБ-15 и ДАБ-28 (4-фторфенил), ДАБ-27 и ДАБ-29 (4-трифторметилфенил), ДАБ-36 и ДАБ-41 (4-хлорфенил) или ДАБ-40 (3,4-дихлорфенил) не являлось благоприятным фактором проявления выраженных противотревожных свойств нового ряда химических соединений. В то же время, введение мышам субстанций ДАБ-41, ДАБ-43, ДАБ-44, ДАБ-45 приводило к развитию анксиолитического эффекта, статистически значимо превышающего показатели группы контроля по времени, проведённому в открытом рукаве в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», не достигающего уровня diaзепамa ($p < 0,05$). По параметру количества выходов в открытый рукав для соединений ДАБ-41, ДАБ-43 и ДАБ-44 статистически достоверно превышен уровень контрольных значений, также превосходя показатели diaзепамa в случае ДАБ-41 и ДАБ-44. Таким образом, наличие атомов Cl и F в фенацильном фрагменте

структур ДАБ-41 и ДАБ-44 позитивно повлияло на уровень противотревожного эффекта указанных веществ (рисунок 3.9).

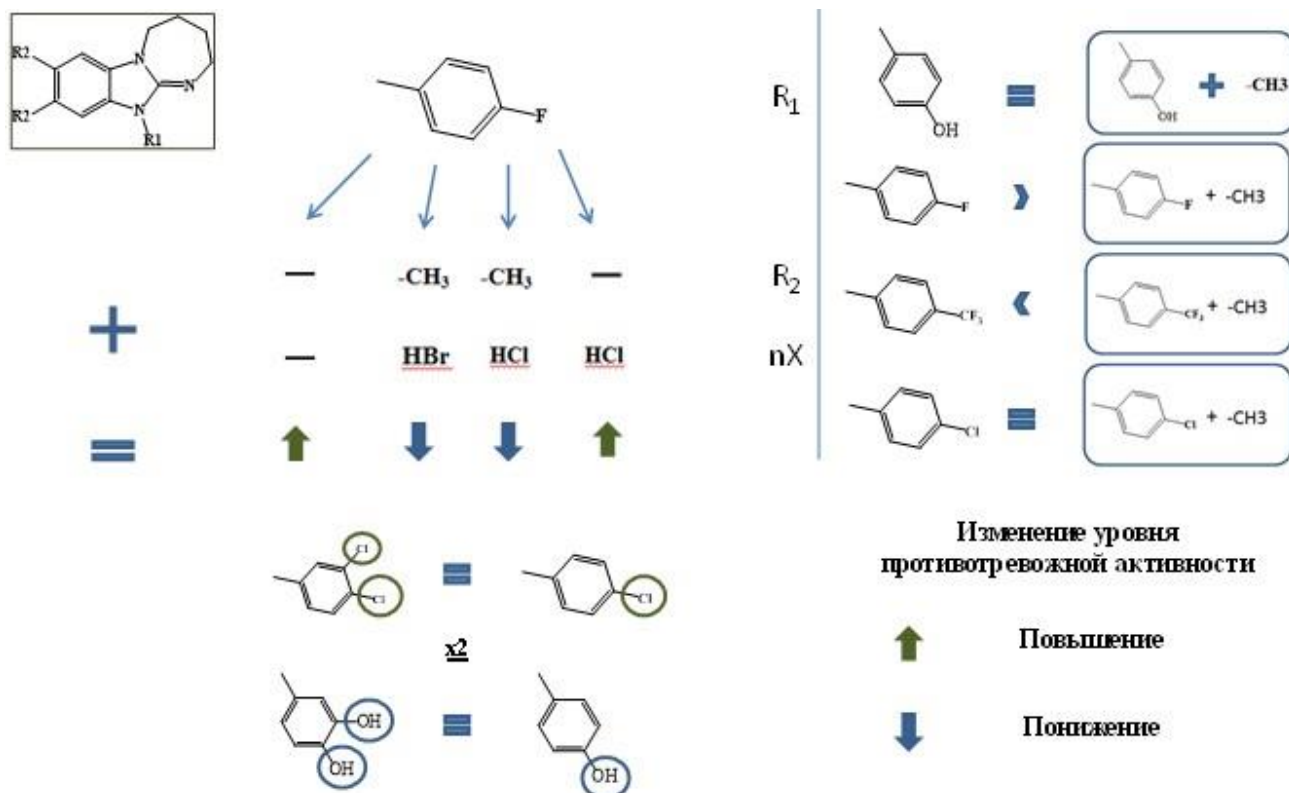


Рисунок 3.9 – Зависимость анксиолитической активности от химической структуры производных 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола ДАБ-15, ДАБ-27, ДАБ-28, ДАБ-29, ДАБ-36, ДАБ-40, ДАБ-41 ДАБ-43, ДАБ-44, ДАБ-45

Среди производных циклопента[сd]азулениума, соединения ДАБ-46, ДАБ-47, ДАБ-48 и ДАБ-49 показали статистически значимое отличие от группы контроля по показателям времени и количества выходов в открытый рукав в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ($p < 0,05$). При этом, только уровень противотревожного действия фторфенилпроизводного ДАБ-47 соответствовал препарату сравнения диазепаму. Для оксифенилпроизводного ДАБ-46, близкого структурного аналога ДАБ-47, время, проведенное животными в открытом рукаве установки «Приподнятый крестообразный лабиринт», снижалось в 2-3 раза по сравнению с ДАБ-47. Противотревожный эффект субстанции ДАБ-50, также отличающейся одной метильной группой от структуры ДАБ-47, оказался невысоким, а по показателю времени пребывания животных в светлом рукаве не превысил контрольные значения (рисунок 3.10).

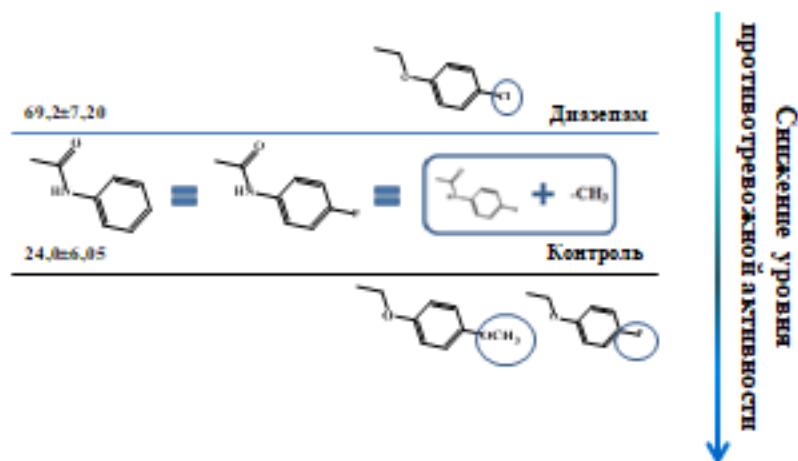


Рисунок 3.10 – Зависимость анксиолитической активности от химической структуры производных циклопента[*cd*]азулениума ДАБ-46, ДАБ-47, ДАБ-48, ДАБ-49, ДАБ-50

Ацетамидные производные diazepино[1,2-*a*]бензимидазола ДАБ-24 (фенилацетамид), а также ДАБ-43 и ДАБ-44, содержащие (4-фторфенил)ацетамид, проявили активность на уровне афобазола. Феноксипропиловые производные – ДАБ-25 (4-фторфеноксипропил) и ДАБ-14 (метоксифеноксипропил) – проявили низкий уровень активности, хотя замещение фтора в структуре ДАБ-25 на хлор у ДАБ-13 оказалось положительным фактором анксиолитического действия соединения, не уступавшего diaзепаму ($p < 0,05$).

3.3.4 Производные 5*H*-2,3-бензодиазепина

Не отмечено значимого влияния на поведение животных под действием соединения РД-15, 4-гидразино-7,8,9-триметил-1-фенил-5*H*-пирроло[2,1-*d*][1,2,5]триазепина, хотя для гидразинсодержащих производных 5*H*-2,3-бензодиазепина РД-1 и РД-9 отмечена активность на уровне афобазола ($p < 0,05$). Для метоксифенилсодержащих соединений с пиразольным фрагментом в качестве второго радикала была показана активность на уровне афобазола (РД-7) и diaзепам (РД-6). Можно отметить, что синтезированные соединения РД являются структурными аналогами «дневного» бензодиазепинового анксиолитика тофизопама (рисунок 3.11).

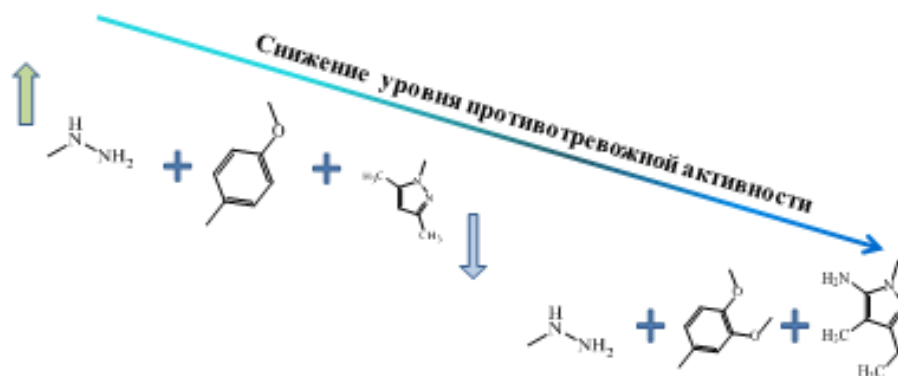


Рисунок 3.11 – Уровень анксиолитической активности различных производных 5H-2,3-бензодиазепина

3.3.5 Производные 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина

В ряду {[6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин-3-ил]метил}амин (РД-14) – {2-[6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин-3-ил]этил}амин (РД-3) – 3-[6-(4-метоксифенил)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин-3-ил]пропил}амин (РД-11) уровень противотревожной активности несколько снижался. Так, под влиянием соединения РД-11 мыши проводили в открытом рукаве ПКЛ в среднем на 9% меньше времени, чем в группе РД-3, и на 30% меньше по сравнению с РД-14. Аналогичная зависимость отмечена и по показателю числа выходов животных в открытый рукав. Таким образом, удлинение боковой цепи за счет увеличения числа метильных групп, предшествующих аминогруппе, негативно сказывается на противотревожном эффекте новых соединений.

Наличие в 3 положении триазольного цикла остатка пропионовой кислоты (РД-5) или фенильного заместителя (РД-10) не оказывало влияние на уровень анксиолитического действия субстанций: их эффект соответствовал контрольным значениям. В то же время, наличие в том же положении 2-фурила (РД-4) приводило к значительному возрастанию искомого эффекта, как по времени, так и по числу выходов в открытый рукав, по уровню сопоставимому с диазепамом в дозе 1 мг/кг ($p < 0,05$).

Наиболее активными соединениями изучаемого ряда стали 3-(2-фурил)-6-(4-метоксифенил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин (РД-4), 3-(1,3-диметил-1*H*-пиразол-5-ил)-6-(4-метоксифенил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин (РД-12) и 6-(4-метоксифенил)-3-метил-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин (РД-13). Не уступал им по уровню активности и РД-8, 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазепино[5,4-а]бензимидазол. Отмечено, что введение пиррольного цикла в положении 3 (РД-12) практически не влияло на величину противотревожного эффекта субстанций. Однако, удлинение боковой цепи РД-13 всего на одну метильную группировку (РД-2) приводило к снижению искомой активности практически на 20% ($p < 0,05$, рисунок 3.12).

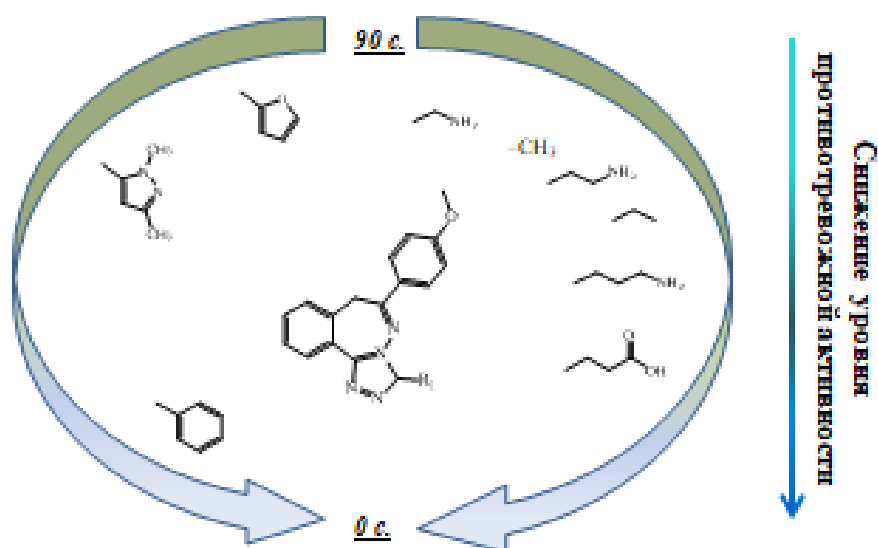


Рисунок 3.12 – Уровень анксиолитической активности различных производных 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина

3.3.6 Заключение

Была установлена статистически значимая зависимость анксиолитической активности производных диазепино[1,2-а]бензимидазола от их химического строения: для соединений с разветвленным концевым фрагментом в 11 положении отмечалось повышение противотревожной активности, а также присутствие пирролидинового или морфолиноэтильного фрагментов увеличивало

искомую активность. Негативное воздействие на проявление противотревожной активности оказывали метильные радикалы в 8 и 9 положениях. Выявлено, что бифенильный фрагмент в 75% случаев дает устойчивый анксиолитический потенциал изучаемой структуре.

Было показано, что на противотревожную активность производных циклопента[*cd*]азулениума влияет линкерный участок, соединяющий фенильную группу с базовой структурой. Так, при введении амидной группы отмечается устойчивый анксиолитический эффект, уступающий диазепаму, а замена этого участка молекулы на кислород может как усиливать, так и ослаблять фармакологический эффект. В частности, наиболее выраженное противотревожное действие наблюдается при наличии атома хлора в *para*-положении коровой структуры.

Установлен значительный потенциал анксиолитической активности для различных структурных аналогов бензодиазепа. Для производных 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепа и 5*H*-2,3-бензодиазепа характерен высокий уровень противотревожной активности. Для бензодиазепиновых производных, содержащих триазоловый фрагмент, характерно повышение анксиолитического эффекта при сокращении углеродной цепочки, соединяющей аминогруппу с трициклическим базовым каркасом. Для производных 5*H*-2,3-бензодиазепа установлена следующая зависимость: количество метокси-групп в 4 положении практически не влияет на показатель противотревожной активности субстанций, а отсутствие амидной группы у пиразолового цикла повышало вероятность проявления анксиолитического эффекта.

Была показана статистически значимая зависимость между уровнем противотревожной активности производных 2-меркаптобензимидазола и их строением. Наличие радикала, содержащего циклический фрагмент с гидроксигруппой либо встроенным в цикл кислородом, повышает вероятность проявления анксиолитического действия вещества. Характер заместителя в 5 положении не имел выраженной зависимости, и, скорее всего, имеет компенсирующий характер по отношению к серосодержащим радикалам во 2 положении. В целом, для

производных бензимидазолов показан значимый потенциал противотревожной активности, с высокой вероятностью обнаружения субстанций, не уступающих по уровню противотревожного действия не только афобазолу, но и диазепаму.

Для производных хиноксалина установлен умеренный потенциал проявления анксиолитической активности. Наиболее активным стало соединение под шифром ЗДМ-81.

3.4 Построение нейросетевой модели оценки анксиолитической активности

На основании полученных в результате поиска новых соединений с противотревожным действием данных представляется важным создать механизм прогноза и оптимизации уже существующих структур. С этой целью были использованы методы сетевой фармакологии [Lagunin et al., 2020; Zhou et al., 2020; Li et al., 2021].

3.4.1 Формирование обучающей выборки для создания нейросетевой модели

В настоящем исследовании были даны рекомендации по дальнейшей оптимизации как уже существующих, так и вновь созданных хемотипических групп соединений, проявляющих анксиолитическое действие. С целью создания более простой системы поиска соединений, проявляющих анксиолитическую активность, полученные результаты были использованы для создания модели нейросетевой оценки соединений. Для этого была оценена релевантность 2057 мишеней, ассоциированных с тревожным расстройством и выбранных согласно базе данных Open Targets (URL: <https://www.opentargets.org/>). В отношении изучаемых хемотипов - изостеров бензодиазепинового и бензимидазолового скаффолдов отобрано 14 наиболее значимых белков-мишеней. Для этих белков найдены валидные 3D-модели, релевантные анксиолитической активности изучаемых хемотипов.

Сформирована верифицированная база данных по структуре и градуированному уровню анксиолитической активности 216 известных соединений, структурно сходных с изучаемыми хемотипами. База данных содержит 30 соединений с высокой активностью, 64 соединения с умеренной

активностью, 67 соединений с низкой активностью, 34 активных соединения без указания уровня активности и 21 неактивное соединение.

Проведено построение и оптимизация 3D-моделей 216 известных анксиолитических соединений из сформированной базы данных. Определены ключевые связывающие аминокислоты 17 сайтов 14 релевантных белков-мишеней и сформированы 17 областей докинга низкомолекулярных лигандов в сайты 14 релевантных белков-мишеней с использованием 14 валидных 3D-моделей.

Выполнен ансамблевый докинг оптимизированных 3D-структур 216 известных анксиолитических соединений (из созданной базы данных), структурно сходных с изучаемыми хемотипами, в 17 сайтов 14 валидных 3D-моделей 14 релевантных белков-мишеней. Получена матрица аффинности этих 216 соединений в отношении 17 сайтов 14 релевантных биомишеней, содержащая 3672 минимальных значений энергий докинга ΔE .

По итогам подготовки данных сформирована обучающая выборка для нейросетевого моделирования, включающая три показателя уровня анксиолитической активности 216 известных соединений, 17 показателей их аффинности ΔE в отношении 17 сайтов 14 белков-мишеней и семь переменных сэмпинга.

3.4.2 Нейросетевое моделирование

В процессе обучения нейронных сетей для каждой из трех градаций активности и каждого из семи вариантов сэмпинга было отобрано по одной наилучшей по точности нейросети – всего 21 нейросеть. В результате была сформирована консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных изучаемым хемотипам. Модель включает три ансамбля по семь нейросетей. В каждом ансамбле были определены группы активности «высокая/низкая», «высокая/умеренная/низкая», «активная/неактивная», в рамках которых выработка итогового заключения об уровне активности прогнозируемого соединения производится путем обобщения на основе консенсуса спектра

прогнозных оценок, полученных с использованием семи нейросетей по каждому из трех уровней активности. Показатели точности входящих в ансамбли классификационных нейросетей приведены в таблице А.14. Во всех случаях наблюдается достаточно высокая точность обучения, тестирования и валидации. По каждому уровню активности для каждой отобранной нейросети была выполнена оценка на объединенной выборке общей точности прогноза F_0 , точности прогноза активных соединений F_a (чувствительность), точности прогноза неактивных соединений F_n (специфичность) и точности прогноза по данным ROC-анализа.

Консенсусная оценка уровня анксиолитической активности конкретной химической структуры с использованием полученного ансамбля нейронных сетей выполнялась следующим образом. Для прогнозируемого соединения по каждому уровню активности с использованием семи нейросетей выполняли расчет наличия/отсутствия данного уровня активности, в результате чего получали спектр из трех наборов альтернативных прогнозных оценок. Обработку этого спектра первичных оценок проводили с использованием простого невзвешенного консенсуса, где результатом голосования по семи исходам принимался такой, для которого наблюдалось четыре или более совпадающих оценок. Во всех случаях наблюдается достаточно высокая точность прогноза. При этом все консенсусные прогностические характеристики трех ансамблей нейросетей для всех трех уровней активности превышают соответствующие средние показатели. Область применения для полученной модели определяется диапазоном ΔE от -0.5 до -11.8 ккал/моль.

Таким образом, полученная консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных изучаемым скаффолдам изостеров бензодиазепина и бензимидазола, характеризуется высокой прогностической способностью.

3.4.3 Консенсусный анализ чувствительности нейронов и определение биомишеней, наиболее значимых для формирования высокой анксиолитической активности соединений, релевантных хемотипам изучаемых производных бензимидазола и бензодиазепина

Результаты консенсусного анализа чувствительности нейронов семи наилучших по точности нейросетей, полученных в семи вариантах сэмплинга для уровня активности «высокий» приведены в таблице 3.11. Однако стоит учитывать, что для формирования нейросетевой модели поиска были включены все хемотипы изостеров бензимидазола и бензодиазепина. Для выбранных нейронных сетей устойчивая чувствительность была характерна в отношении адреналиновых α_{1A} и α_{2A} рецепторов, ангиотензиновых рецепторов 1 типа и глутаматергических NMDA рецепторов.

Таблица 3.11 - Данные консенсусного анализа чувствительности нейронов лучших нейронных сетей с чувствительностью выше 6%, отражающие связь анксиолитического эффекта с возможными биомишенями, через которые опосредуется действие.

Мишень	Система	Количество значимых нейронов с чувствительностью выше 6%
AT ₁	ангиотензиновая	6
α_{1b}	адренергическая	6
NMDA-Glut	глутаматергическая	5
α_{2a}	адренергическая	5
5-HT ₇	серотонинергическая	4
5-HT _{2A} -Allo	серотонинергическая	4
GABA _A -Benz	ГАМК-ергическая	3
5-HT ₄	серотонинергическая	3
NMDA-Ca	глутаматергическая	2
5-HT _{2A} -Spec	серотонинергическая	2
GABA _A -GABA	ГАМК-ергическая	1
α_{2b}	адренергическая	1
MT _{1b}	мелатониновая	1
α_{1a}	адренергическая	1
5-HT _{1A}	серотонинергическая	0
MT _{1a}	мелатониновая	0
VMAT ₂	везикулярные аминотранспортеры	0

3.4.4 Построение мультитаргетных фармакофоров высокой анксиолитической активности изучаемых производных бензимидазола и бензодиазепина

Результатом построения нейронных сетей, помимо возможности их использования для поиска новых активных субстанций, проявляющих выраженную анксиолитическую активность, является построение фармакофоров, которые помогут определить основные векторы оптимизации молекулы.

Для этого на первом этапе из изученного пула химических классов был выбран наиболее перспективный - 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолы.

Для 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов серии ДАБ с высокой анксиолитической активностью построены монотаргетные фармакофоры в отношении четырех значимых по результатам нейросетевого моделирования биомишеней: α_{1b} -, α_{2a} -адренергические, АТ₁-ангиотензиновой и NMDA-глутаматергической. Результаты приведены на рисунке 3.13.

Суперпозицией монотаргетных фармакофоров для 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов серии ДАБ получен мультитаргетный фармакофор высокой анксиолитической активности, отражающий универсальную особенность взаимодействия производных этого класса с наиболее значимыми по результатам прогноза биомишенями, которые приведены на рисунке 3.14.

Таким образом, посредством решения обратной задачи, на основе анализа консенсусной ансамблевой мультитаргетной нейросетевой модели анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных азотсодержащим гетероциклическим хемотипам, были выявлены четыре значимые биомишени и построены мультитаргетные фармакофоры высокой активности, характеризующие вероятные особенности взаимодействия 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов с рецепторами.

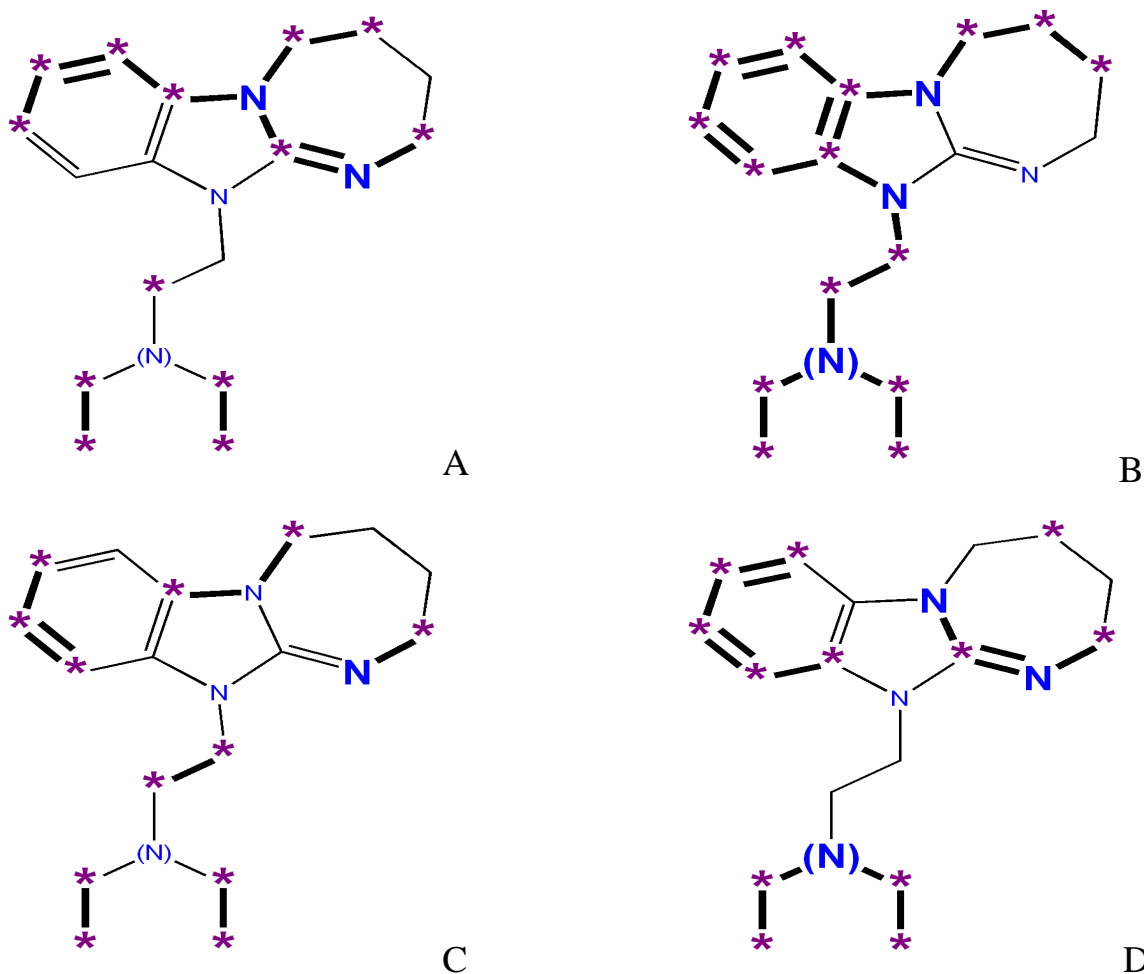


Рисунок 3.13 - Монаркетные фармакофоры высокой анксиолитической активности 11-замещенных 2,3,4,5-тетрагидро-1H-[1,3]дiazеино[1,2-a]бензимидазолов: А – в отношении рецептора α_{1b} ; В - в отношении рецептора α_{2a} ; С - в отношении рецептора AT_1 ; D - по отношению к глутаматергическому сайту рецептора NMDA. Ключевые связывающие фрагменты выделены жирным шрифтом

3.4.5 Заключение

При проведении настоящего исследования впервые были получены следующие результаты:

- Создана верифицированная база данных по структуре и уровню анксиолитической активности 663 экспериментально изученных известных химических соединений;
- Сформирован набор данных по структуре и уровню анксиолитической активности 216 известных соединений, структурно сходных с изучаемыми хемотипами изостеров бензимидазола и бензодиазепиа;

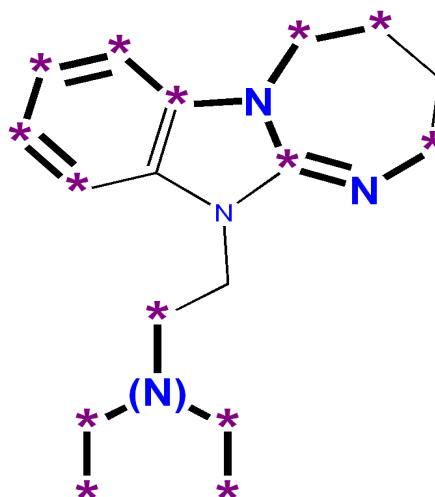


Рисунок 3.14 - Мультицелевой фармакофор с высокой анксиолитической активностью, соответствующий в сумме биомишеням α_{1b} , α_{2a} , AT_1 , NMDA: A - для 11-замещенных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов. Ключевые связывающие фрагменты выделены жирным шрифтом.

- Определены 17 биомишеней, определяющих вероятную анксиолитическую активность и релевантных изучаемым хемотипам;
- Построена консенсусная ансамблевая мультицелевая модель зависимости анксиолитической активности химических соединений от их энергий докинга в 17 релевантных биомишеней;
- Показана распознающая и прогностическая способность полученной консенсусной модели, в среднем, по данным ROC анализа, составляющая 98.9%;
- Выполнен консенсусный анализ чувствительности нейронов полученной модели и определены вероятные биомишени 1_b -, α_{2a} - адренергические, AT_1 - ангиотензиновый и NMDA-глутаматовый рецепторы;
- Для 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов с высокой анксиолитической активностью построены монотаргетные фармакофоры, определяющих аффинность к каждой из биомишеней;
- Для 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов построен мультицелевой фармакофор, определяющий спрогнозированную аффинность к биомишеням с учетом их взаимного влияния друг на друга, и обеспечивающих анксиолитическую активность.

Впервые были построены мультитаргетные фармакофоры, определяющие аффинность производных бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов к нескольким наиболее важным биомишеням анксиолитической активности, с учетом взаимного влияния этих биомишеней друг на друга. Взаимное влияние наиболее значимых ключевых биомишеней друг на друга, отраженное в построенных мультитаргетных фармакофорах, обусловлено тем, что выявление указанных биомишеней было проведено с использованием технологии искусственных нейронных сетей, основной фундаментальный принцип которых в обязательном порядке предполагает учет взаимосвязей всех нейронов между собой.

Необходимо также специально отметить, что идентификация фармакофоров анксиолитической активности впервые была проведена на основе решения обратной задачи анализа предварительно построенной QSAR-модели. При этом, используемая консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных производным бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов, также была построена впервые. Впервые было выполнено построение монотаргетных фармакофоров, определяющих аффинность производных бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов к наиболее важным биомишеням анксиолитической активности по отдельности. Характерно, что ни один из построенных фармакофоров не включает целиком всю структуру скаффолда. Взаимодействие обеспечивается различными фармакофорными фрагментами трициклических систем, а также фармакофорными фрагментами заместителей. Таким образом, как монотаргетное, так и мультитаргетное фармакофорное взаимодействие анализируемых производных с ключевыми биомишенями анксиолитической активности является многоцентровым и определяется различным позиционированием молекулы в сайтах биомишеней.

Сформированная консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений и построенные на ее основе монотаргетные и мультитаргетные фармакофоры используются в

направленном поиске новых производных бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов с высокой анксиолитической активностью.

3.5 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование по изучению анксиолитической активности среди различных изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных позволило определить фармакологический потенциал 7 групп химических хемотипов и значительно расширить представления о взаимосвязях между структурой изучаемых соединений и уровнем проявляемой активности веществ, расширяет представление о близости биологической активности изученных изостеров.

Для производных C^2, C^3 -хиноксалина, 2-меркаптобензимидазола, 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола, 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазепино[5,4-*a*]бензимидазола, 3,4,5,6-тетрагидро-2*a*,6*a*,10*b*-триазабензо[*a*]циклопента[*cd*]азулен-2*a*-иума, 5*H*-2,3-бензодиазепина и 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепина определен потенциал изучения их анксиолитической активности (рисунок 3.15). Выявлены наиболее перспективные субстанции для каждого класса. Выбранные хемотипы, являющиеся изостерами 2 скаффолдов, бензимидазольного и бензодиазепинового, являются перспективными в рамках поиска высокоактивных веществ с противотревожной активностью, а выбранный подход поиска новых молекул, основанный на изостерной оптимизации структур является эффективным при разработке анксиолитических соединений.

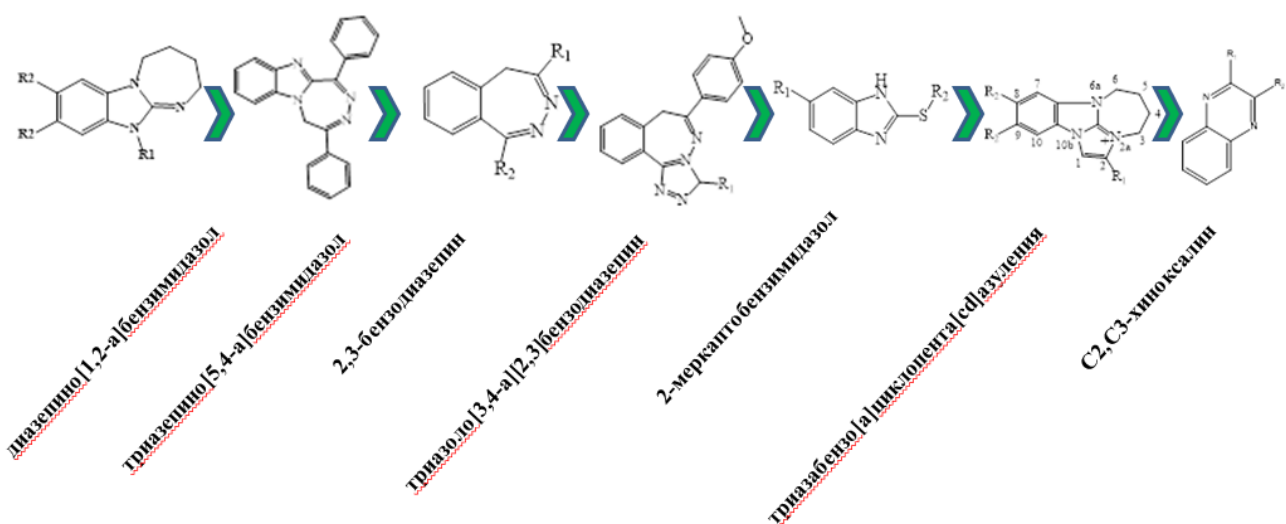


Рисунок 3.15 – Градация перспективности поиска соединений с анксиолитической активностью среди различных классов изостеров бензимидазольного и бензодиазепинового скаффолдов.

Установлен наиболее перспективный класс химических производных $11H$ -[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазолы. Указанный класс является новым и ранее не изученным. Для производных данного химического класса впервые установлены психофармакологические эффекты, представляющие фундаментальный интерес для дальнейшего его изучения. Базовый скаффолд представляет из себя комбинацию двух привилегированных подструктур - diaзепиновой и имидазольной.

Выявлена возможность химической модификации $11H$ -[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола с последующим сохранением потенциала противотревожной активности на примере бифенильных производных $11H$ -2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола и 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума. Полученные данные имеют фундаментальное и прикладное значения в области экспериментальной фармакологии, фармацевтической химии и смежных дисциплин.

Определены особенности химического строения заместителей, вносящих наибольший вклад в выраженность анксиолитического действия изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов. Для производных

дiazеино[1,2-а]бензимидазола таковым являлось присутствие пирролидинового или морфолиноэтильного фрагментов. Бифенильный фрагмент в 75% случаев дает устойчивый анксиолитический потенциал изучаемой структуре. На искомую активность производных циклопента[сd]азулениума влияет линкерный участок, в частности, амидная группа. Для бензодиазепиновых производных, содержащих триазоловый фрагмент, необходимо сокращение углеродной цепочки, соединяющей аминогруппу с трициклическим базовым каркасом. Для производных 5H-2,3-бензодиазепина установлено, что отсутствие амидной группы у пиразолового цикла повышает выраженность анксиолитического эффекта. Производным 2-меркаптобензимидазола необходим радикал, содержащий циклический фрагмент с гидроксигруппой, либо встроенный в цикл кислород. На основании полученных данных создана нейросетевая модель оценки анксиолитической активности, а также сформирован мультитаргетный фармакофор для производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола.

Таким образом, среди всех изостеров бензимидазолового и бензодиазепинового скаффолдов установлен наиболее перспективный класс для поиска веществ с выраженным анксиолитическим действием - производные 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола. Выявлены новые высокоактивные соединения 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола гидробромид (ДАБ-19) и 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2а]бензимидазола дигидрохлорид (ДАБ-21), являющиеся перспективными для изучения их психофармакологического профиля и исследования их потенциала как перспективных биологически активных веществ.

ГЛАВА 4. НЕЙРОПСИХОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 11*H*-[1,3]ДИАЗЕПИНО[1,2-*A*]БЕНЗИМИДАЗОЛА

В рамках настоящего исследования было показано, что производные диазепино[1,2-*a*]бензимидазола являются наиболее перспективными из всех изученных производных бензимидазолового и бензодиазепинового скаффолдов. Согласно рекомендациям по проведению доклинических исследований анксиолитических средств [Воронина и др., 2012], для подтверждения противотревожного действия новых соединений необходимо изучить наиболее активные вещества в базисных и дополнительных поведенческих тестах, а также составить спектр нейропсихотропных эффектов, сопутствующих основной активности [Середенин и др., 2009; Тюренков и др., 2017].

4.1 Исследование нейропсихотропных эффектов соединения 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола гидробромида (ДАБ-19)

В рамках настоящего исследования были изучены анксиолитические («Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темная/светлая камера», «Тревожно-фобическое состояние животных» и «Конфликтная ситуация по Vogel»), поведенческие («Открытое поле»), антидепрессивные («Принудительное плавание по Porsolt», «Подвешивание за хвост»), противосудорожные («Максимальный электрошок», «Коразоловые судороги»), снотворные («Гексеналовый сон»), анальгетические (тест «Отдергивания хвоста», «Горячая пластина»), антикомпульсивные (тест «Закапывания шариков»), когнитивные (тест «Экстраполяционного избегания») свойства соединения ДАБ-19 - 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазола гидробромида.

4.1.1 Анксиолитическая активность соединения ДАБ-19

Для подтверждения ранее полученных данных об анксиолитическом действии соединения ДАБ-19 был проведен ряд неконфликтных и конфликтных методик, а также изучение длительности эффекта нового вещества с определением эффективной дозы для проявления противотревожного действия.

Согласно рекомендациям «Руководства по доклиническому изучению лекарственных средств» [Миронов и др., 2012; Воронина и др., 2012], был сформирован перечень тестов для проверки анксиолитических свойств ДАБ-19: «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темная/светлая камера», «Открытое поле», «Тревожно-фобическое состояние животных» и «Конфликтная ситуация по Vogel».

4.1.1.1 Зависимость анксиолитической активности соединения от дозы

Для оценки характера зависимости проявляемого анксиолитического действия соединения ДАБ-19 от выбранной дозы, диапазон доз изучаемого вещества был рассчитан эквимолярно препарату сравнения диазепаму [Таран и др., 2017]. Соединение ДАБ-19 является аналогом диазепама как по проявляемому противотревожному эффекту, так и по химической структуре. Расчет указанных доз приведен в таблице 4.1.

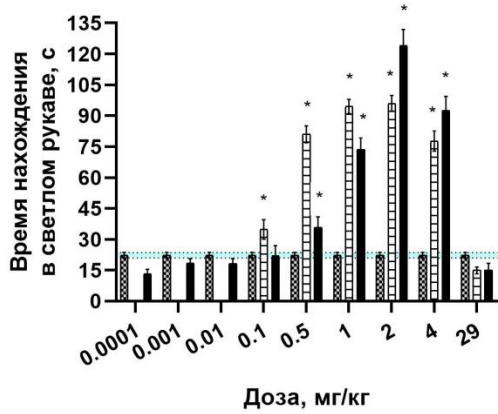
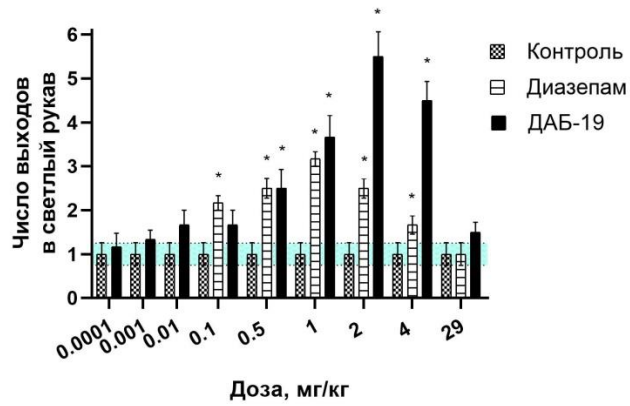
Таблица 4.1 – Эквимолярное соотношение доз диазепама и соединения ДАБ-19

Доза диазепама	Доза соединения ДАБ-19
0,0001	0,00015
0,001	0,0015
0,01	0,015
0,1	0,15
0,5	0,7
1	1,45
2	2,9
4	5,8
29	42

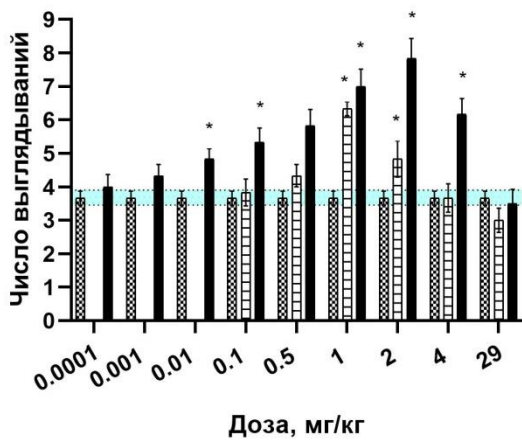
По результатам проведенного исследования показано, что в диапазоне доз 0,0001-0,01 мг/кг диазепам не проявил анксиолитического действия: время и число выходов мышей в открытый рукав установки ПКЛ в указанных дозах не превышали контрольные значения. В дозах 0,1 и 0,5 мг/кг диазепам более эффективен, чем исследуемое соединение ДАБ-19: время нахождения в открытых рукавах под влиянием диазепама было выше на 38% и 57% соответственно, хотя по числу выходов в светлые участки параметры групп были приблизительно

равны. В дозе 1 мг/кг диазепам превосходит показатели соединения ДАБ-19 на 23%, но статистически незначимо, а в дозе 2 мг/кг диазепам на 24% уступает эффекту соединения ДАБ-19 по времени в светлых рукавах и на 55% по количеству выходов в них. В дозе 4 мг/кг диазепам уступает показателям вещества ДАБ-19 на 17% по времени, проведенному в открытом рукаве, и на 180% по числу выходов на открытые участки. При увеличении дозы до 29 мг/кг диазепам и 42 мг/кг соединения ДАБ-19 наблюдали выраженную седацию и сонливость у животных, в связи с чем параметры опытных групп соответствовали контрольным значениям.

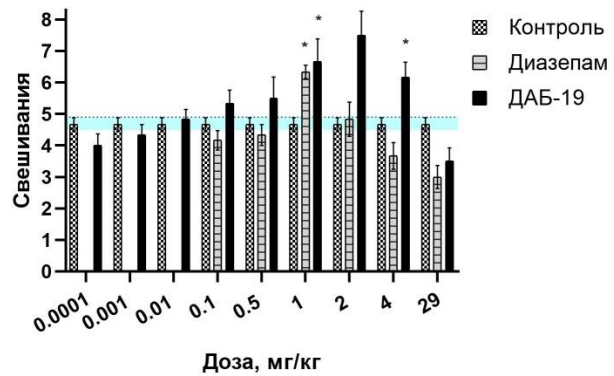
Число свешиваний с открытого рукава ПКЛ является дополнительным параметром оценки анксиолитического действия в условиях данной методики, связанным со страхом животного перед падением с высоты. Уже в дозе 0,15 мг/кг число свешиваний мышей под влиянием соединения ДАБ-19 превышало контрольные значения на 8%, а в дозе 0,7 мг/кг незначительно превосходило диазепам. Параметр находился на одном уровне в опытных группах в дозе 1 мг/кг, после чего эффект диазепам спадал, приближаясь к значениям контрольной группы, а действие соединения ДАБ-19 было выражено в более широком диапазоне доз – до 5,8 мг/кг. Профиль общей двигательной активности (общее число переходов) и числа болюсов, как показателя эмоциональности животных, статистически незначимо отличался в группах диазепам и соединения ДАБ-19 в исследованном диапазоне доз. Можно отметить, что выраженное анксиолитическое действие под влиянием диазепам развивается в дозах 0,5-4 мг/кг, а под действием соединения ДАБ-19 – 1,45-5,8 мг/кг, то есть диапазон действия соединения ДАБ-19 сравнительно более узок. В то же время, величина наблюдаемого эффекта под влиянием исследуемого вещества была выше препарата сравнения в дозах 2,9 и 5,8 мг/кг, а в случае дозы 2,9 мг/кг – статистически достоверно выраженнее по сравнению с диазепамом. Таким образом, эффективной дозой для проявления противотревожного действия соединения ДАБ-19 является 2,9 мг/кг; в этой дозе проводились дальнейшие исследования (рисунок 4.1).

A₁

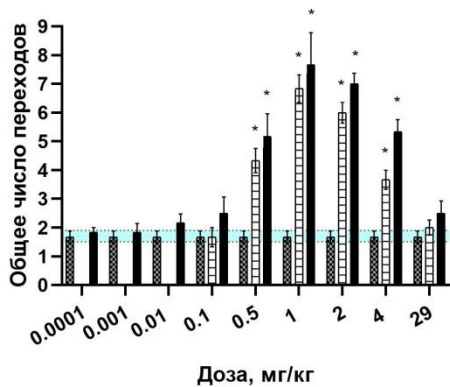
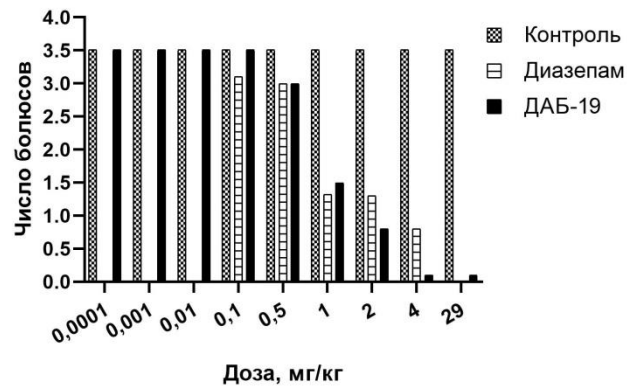
B



C



D

E₁

F

Рисунок 4.1 – Влияние соединения ДАБ-19 (0,00015-42 мг/кг, в/ж) и диазепама (0,0001-29 мг/кг, в/ж) на поведение животных в условиях методики «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве (с); В – Число выходов в светлый рукав; С – Количество выглядываний; D – Количество свешиваний; E – Общее число переходов; F – Количество болюсов. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.1.2 Длительность противотревожного действия соединения

Как известно, противотревожное действие диазепама продолжается более 12 часов [Dhaliwal et al., 2021]. Под влиянием соединения ДАБ-19 в эффективной дозе 2,9 мг/кг уровень эффекта был выражен уже через 30 минут после введения, выходил на «плато», после чего убывал на отметке 8 часов. Уже через 12 часов после введения мышам параметры соединения ДАБ-19 соответствовали контрольным значениям. По результатам проведенного исследования выяснено, что анксиолитическое действие соединения ДАБ-19 продолжается в среднем 4-6 часов. Длительность действия соединения ДАБ-19 уступает препарату сравнения диазепаму (рисунок 4.2).

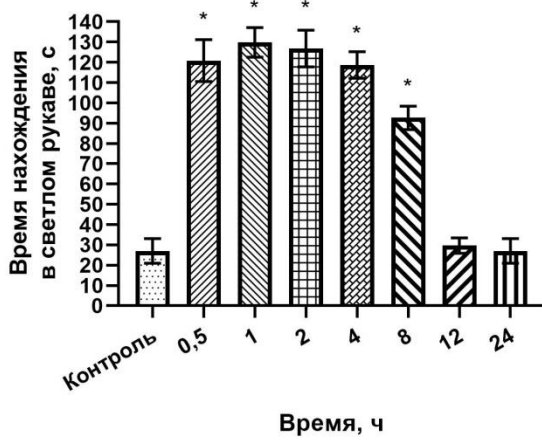
4.1.1.3. Анксиолитическая активность соединения в тестах, основанных на наказуемом и ненаказуемом поведении

Для подтверждения анксиолитической активности соединения ДАБ-19 среди тестов, основанных на ненаказуемом поведении, были выбраны «Темная/светлая камера» и «Тревожно-фобическое состояние» животных, а в качестве конфликтной методики выступило «Наказуемое взятие воды по Vogel».

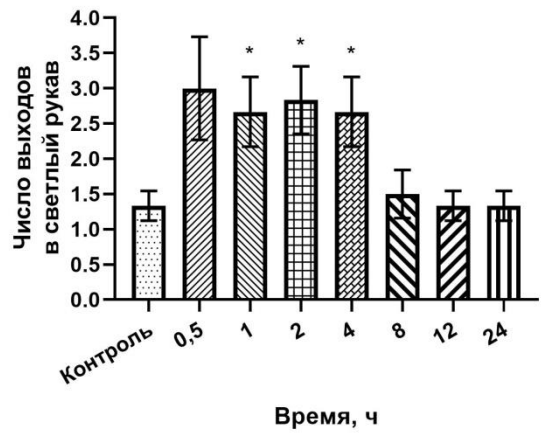
4.1.1.3.1 «Темная/светлая камера»

В тесте «Темная/светлая камера» соединение ДАБ-19 было изучено в диапазоне доз 0,7-2,9 мг/кг. Латентное время выхода из темной камеры для изученного диапазона доз находилось на одном уровне и значимо отличалось от параметров группы контроля, составивших $81,0 \pm 18,20$ с ($p < 0,05$). Не наблюдалось заторможенности животных, отмечалось быстрое принятие ими решений о переходе в другой отсек установки. Общее число переходов не отличалось от контрольных значений ($6,6 \pm 1,17$) в дозах 0,7 ($8,2 \pm 0,45$) и 1,45 мг/кг ($6,5 \pm 0,38$). В то же время, для соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг отмечали стимуляцию двигательной активности до $12,3 \pm 0,33$ переходов. Время, проведенное животными в светлой камере установки, как основной показатель противотревожного действия, в дозах 1,45 ($109,9 \pm 6,94$ с) и 2,9 мг/кг ($112,9 \pm 7,69$ с)

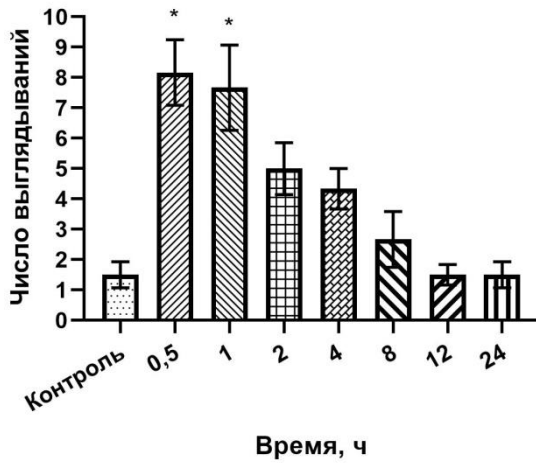
был повышен значимо в группе соединения ДАБ-19 относительно контрольных значений – $59,2 \pm 8,78$ с (рисунок 4.3).



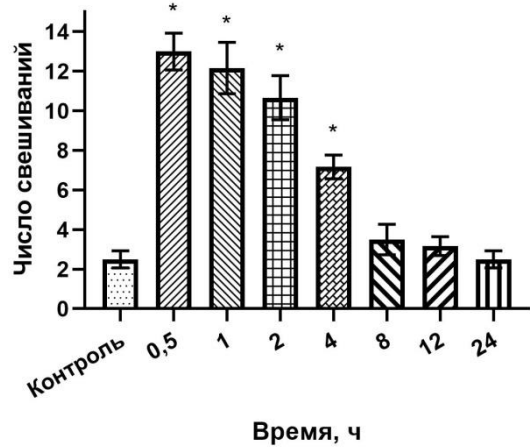
А



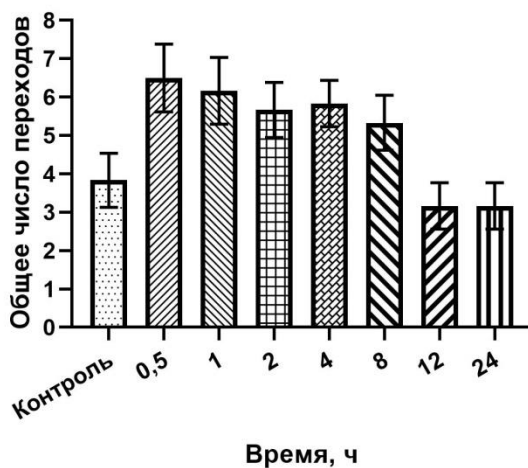
В



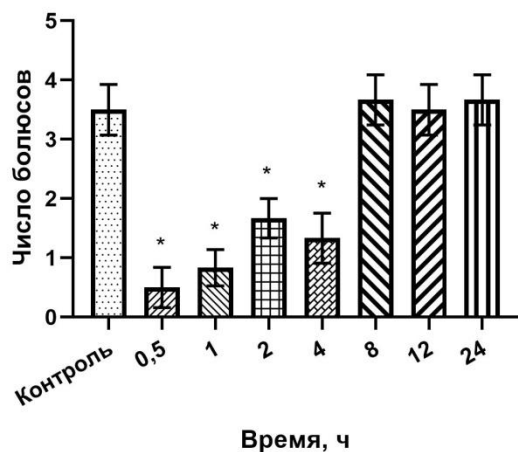
С



D



E



F

Рисунок 4.2 – Длительность влияния соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на поведение животных в условиях методики «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, внутрижелудочное введение, $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве (с); В – Число выходов в светлый рукав; С – Количество

выглядываний; D – Количество свешиваний; E – Общее число переходов; F – Количество болюсов. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

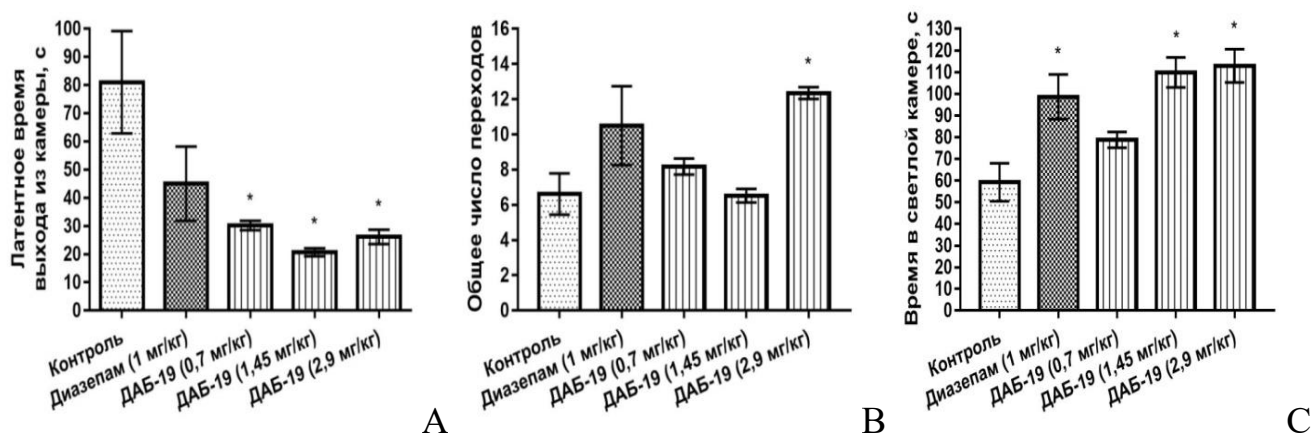


Рисунок 4.3 - Влияние соединения ДАБ-19 (0,7-2,9 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Темная/светлая камера», мыши, $M \pm m$. А – Латентное время выхода и темного отсека (с); В – Общее количество переходов между темной и светлой камерами; С – Общее время нахождения животного в светлой камере (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.1.3.2 «Наказуемое взятие воды по Vogel»

Представленная методика основана на конфликте между питьевой и болевой мотивацией экспериментальных животных [Millan, 2003; Campos et al., 2013; Sudakov et al., 2013]. Проведение конфликтных методик необходимо для подтверждения противотревожного потенциала новых соединений [Воронина и др., 2012]. Под действием соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг латентное время подхода животных к поилке до ($11,7 \pm 0,98$ с) и после ($93,5 \pm 16,12$ с) первого удара током было снижено относительно группы контроля ($52,5 \pm 9,68$ с и $562,0 \pm 11,12$ с, соответственно) и находилось на уровне диазепама в дозе 1 мг/кг ($18,7 \pm 1,74$ с и $120,0 \pm 5,18$ с, соответственно). Общее число подходов к поилке ($4,3 \pm 0,67$) было даже выше, чем в группе препарата сравнения ($3,2 \pm 0,30$), однако статистически незначимо (рисунок 4.4).

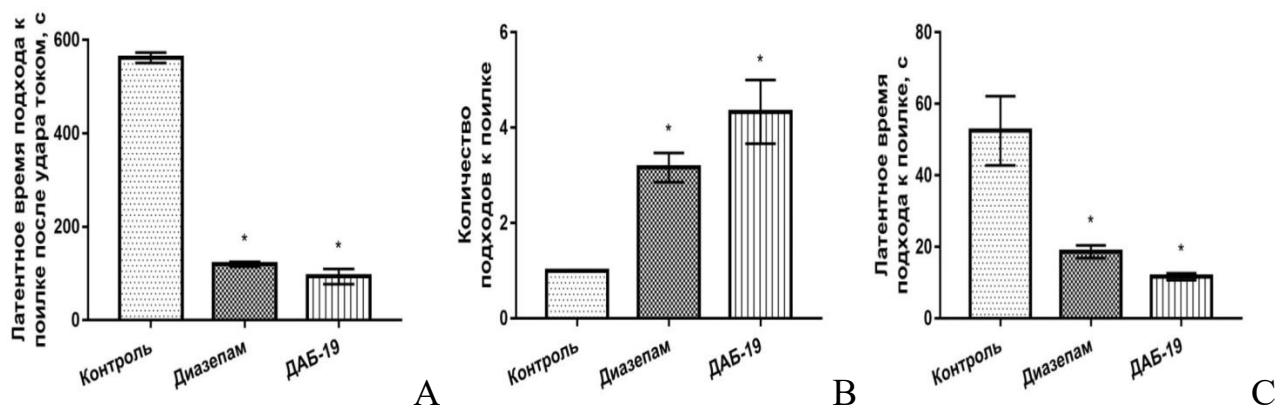


Рисунок 4.4 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel», крысы, $M \pm m$. А – Латентное время подхода к поилке после первого удара тока (с); В – Общее количество подходов к поилке после первого удара тока; С – Латентное время подхода к поилке до первого удара тока (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.1.3.3 «Тревожно-фобическое состояние»

В тесте «Тревожно-фобическое состояние» соединение ДАБ-19 было изучено в диапазоне доз 0,7-2,9 мг/кг. Более корректным подходом в оценке результатов теста «Тревожно-фобическое состояние» на крысах является суммирование баллов по девяти выполненным тестированиям [Шабанов и др., 2016]. Сумма баллов для соединения ДАБ-19 в дозе 0,7 мг/кг ($7,2 \pm 2,18$ балла) статистически незначимо отличалась от параметров группы контроля ($11,8 \pm 0,30$ балла). В дозах 1,45 ($6,0 \pm 1,21$ балла) и 2,9 мг/кг ($4,2 \pm 0,85$ балла) показатели соединения ДАБ-19 не уступали диазепаму в дозе 1 мг/кг ($5,6 \pm 0,59$ балла), статистически достоверно отличаясь от группы контроля ($p < 0,05$), а в дозе 2,9 мг/кг искомый эффект проявился наиболее отчетливо (рисунок 4.5).

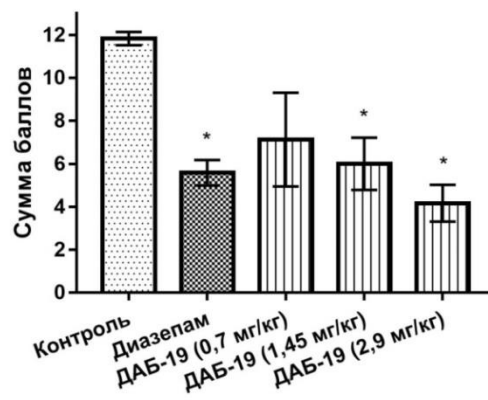


Рисунок 4.5 - Влияние соединения ДАБ-19 (0,7-2,9 мг/кг, в/ж) и диазепам (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Тревожно фобическое состояние», крысы, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.2 Оценка нейропсихотропного профиля соединения ДАБ-19

В рамках расширенного изучения нейропсихотропных свойств соединения ДАБ-19 была изучена поведенческая активность животных под его влиянием в тесте «Открытое поле», антидепрессивный эффект в тестах «Подвешивания за хвост» и «Принудительного плавания по Porsolt», противосудорожное действие в тестах «Максимального электрошока» и «Коразоловых судорог», гипногенные свойства в тесте «Гексеналовый сон», анальгетическое действие в тестах «Отдергивания хвоста» и «Горячей пластины», антикомпульсивный эффект в тесте «Закапывания шариков», влияние изучаемого соединения на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интродер», оценка когнитивных способностей крыс в острой эвристической ситуации («Тест экстраполяционного избавления»), а также исследованы психотропные свойства соединения ДАБ-19 при 14-дневном введении в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле» и «Принудительное плавание по Porsolt», а также в условиях методики хронического непредсказуемого легкого стресса.

4.1.2.1 Поведенческая активность соединения в тесте «Открытое поле»

В условиях теста «Открытое поле» была отмечена стимуляция горизонтальной ($92,8 \pm 2,24$) и вертикальной ($17,0 \pm 2,29$) двигательных активностей мышей под влиянием соединения ДАБ-19 в сравнении с группой контроля ($56,3 \pm 3,99$ и $4,8 \pm 0,94$, соответственно). Поисковая (исследовательская) активность животных была повышена под влиянием диазепама ($10,5 \pm 1,54$) и в группе соединения под шифром ДАБ-19 ($8,0 \pm 1,91$). Анксиолитическое действие (число выходов мышей в освещенный центр «Открытого поля») было обнаружено и подтверждено для соединения ДАБ-19, что согласуется с ранее полученными данными (рисунок 4.6).

4.1.2.2 Антидепрессивная активность соединения

Для соединения под шифром ДАБ-19 ($77,0 \pm 7,26$ с) не отмечено статистически значимого снижения времени замираний мышей в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» в сравнении с трициклическими антидепрессантами амитриптилином (10 мг/кг, $45,3 \pm 6,20$ с) и имипрамином (8 мг/кг, $33,7 \pm 2,72$ с), а также диазепамом – препаратом сравнения по структуре - в дозе 1 мг/кг ($88,7 \pm 8,02$ с). В то же время, время фризинга в группе соединения ДАБ-19 было снижено относительно контроля ($108,2 \pm 10,92$ с) на 29%. В тесте «Подвешивания за хвост» соединение под шифром ДАБ-19 проявило антидепрессивное действие ($72,5 \pm 6,92$ с), выраженное в снижении времени замираний относительно контрольной группы – $154,2 \pm 12,11$ с ($p < 0,05$). Показатель соединения ДАБ-19 не достигает значений групп амитриптилина ($35,0 \pm 9,83$ с) и имипрамина ($44,2 \pm 6,36$ с), и незначимо отличается от них. Полученные значения для препаратов сравнения в целом согласуются с литературными данными [Enríquez-Castillo et al., 2008; Serdiuk et al., 2014; Strekalova et al., 2016] (рисунок 4.7).

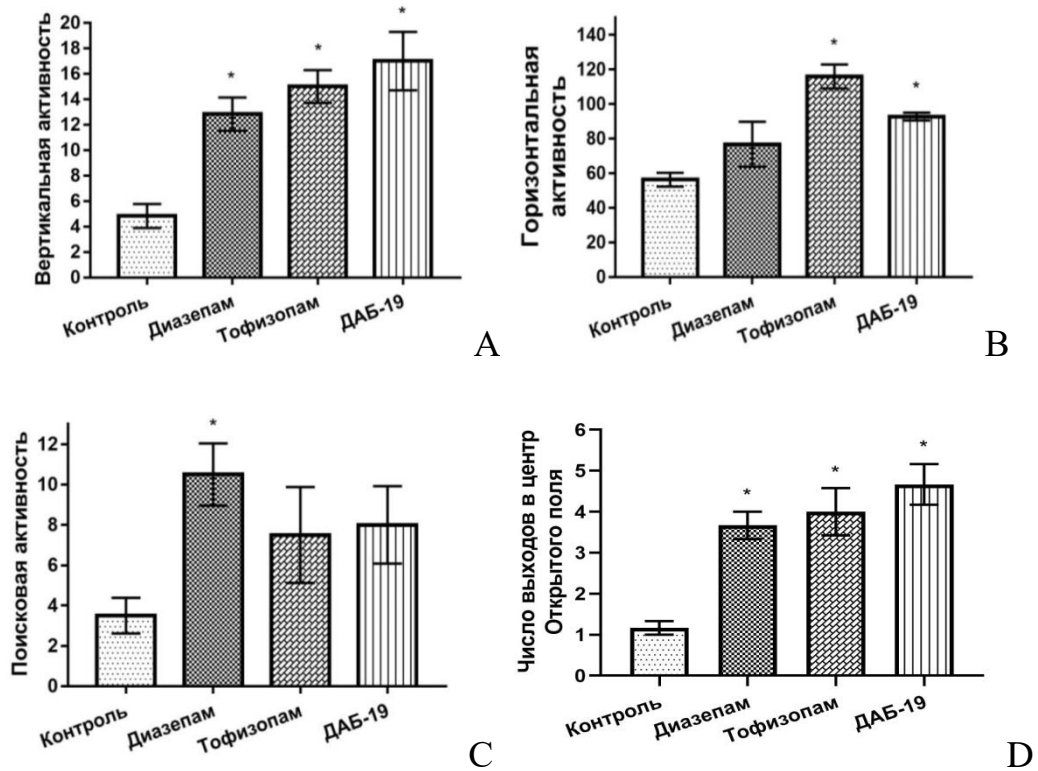


Рисунок 4.6 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепам (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Открытое поле», мыши, $M \pm m$. А - Вертикальная двигательная активность (количество стоек); В – Горизонтальная двигательная активность (количество пересеченных квадратов); С – Поисковая активность (количество заглядываний в норки); D - Число выходов в центр «Открытого поля». Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

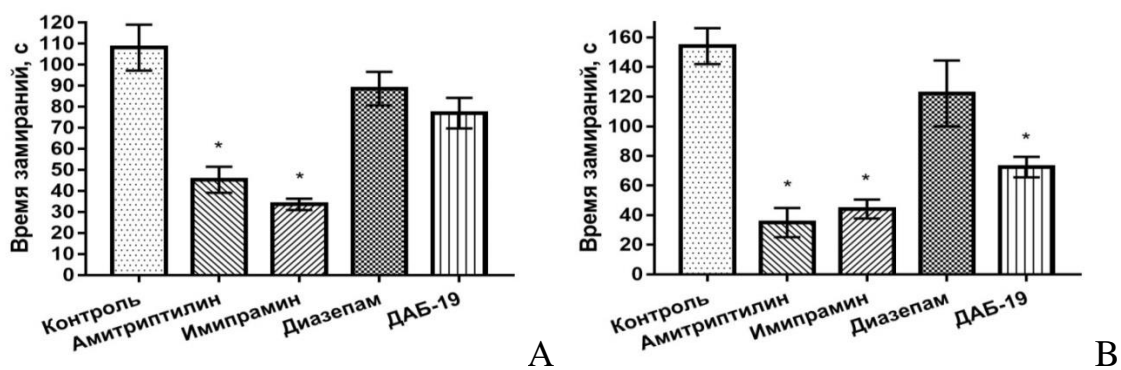


Рисунок 4.7 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), амитриптилина (10 мг/кг, в/ж) и имипрамина (8 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» (А) и «Подвешивания за хвост» (В), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.2.3 Противосудорожная активность соединения

Тест «Максимального электрошока» (МЭШ) является моделью первично-генерализованной эпилепсии, моделирующей «большие» судорожные припадки. Наибольшую активность в данном тесте проявляют соединения, модулирующие/блокирующие потенциал-зависимые натриевые каналы. По результатам исследования, в группе контроля после воздействия МЭШ процент гибели животных составил 83,3%. Под действием соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг отмечено снижение летальности животных на 66,7% относительно группы контроля. Уровень эффекта соединения достигает такого для препарата сравнения вальпроевой кислоты в дозе 100 мг/кг, а значения, полученные для препарата сравнения, соответствует данным литературы [Жмуренко и др., 2018] (таблица 4.2).

Таблица 4.2 - Противосудорожная активность соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б) в тесте «Максимальный электрошок» в сравнении с вальпроевой кислотой (100 мг/кг, в/б), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, t-критерий Стьюдента).

	Летальность, %
Контроль	83,3 (5/6)
Вальпроевая кислота (100 мг/кг)	16,6 (1/6)*
ДАБ-19 (2,9 мг/кг)	16,6 (1/6)*

Методика «Коразоловых судорог» основана на ГАМК-ергическом воздействии на ЦНС новых соединений и известных препаратов и используется как скрининговый метод идентификации противосудорожного эффекта [Shimada et al., 2018]. Для диазепама характерны выраженные противосудорожные свойства в тесте «Коразоловые судороги», что связано с его ГАМК-миметическим действием [Dhaliwal et al., 2021]. При тестировании субстанции ДАБ-19 в указанном тесте было показано, что эффект соединения ДАБ-19 хоть и уступает диазепаму, но, тем не менее, значительно снижает как уровень летальности животных, так и риск возникновения судорожных эпизодов у животных (таблица 4.3).

Таблица 4.3 - Противосудорожная активность соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б) в тесте «Коразоловые судороги» в сравнении с диазепамом (2 мг/кг, в/б), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

	Латентное время возникновения судорог, с	Летальность, %
Контроль	$74,5 \pm 14,22$	83,3 (5/6)
Диазепам (2 мг/кг)	-	0
ДАБ-19 (2,9 мг/кг)	$140,2 \pm 7,85^*$	16,6 (1/6)

4.1.2.4 Гипногенное действия соединения

Для производных бензодиазепаина известен снотворный потенциал [Dhaliwal et al., 2021]. В рамках исследования снотворных свойств соединения ДАБ-19 в эффективной дозе 2,9 мг/кг выявлено, что длительность сна, индуцированного соединением ДАБ-19, составляет $54,4 \pm 3,52$ минуты, в то время как в группе контроля – $44,6 \pm 6,88$ минут. Под действием диазепама в дозе 5 мг/кг мыши спали значительно дольше – до $69,0 \pm 4,77$ минут. Латентное время засыпания животных под действием изучаемого соединения составило $2,8 \pm 0,32$ минуты, диазепама – $2,1 \pm 0,10$ минут, контроля – $3,2 \pm 0,29$ минут. Можно заключить, что значимых различий между группами контроля и соединения ДАБ-19 не зарегистрировано в рамках проведенной работы (рисунок 4.8).

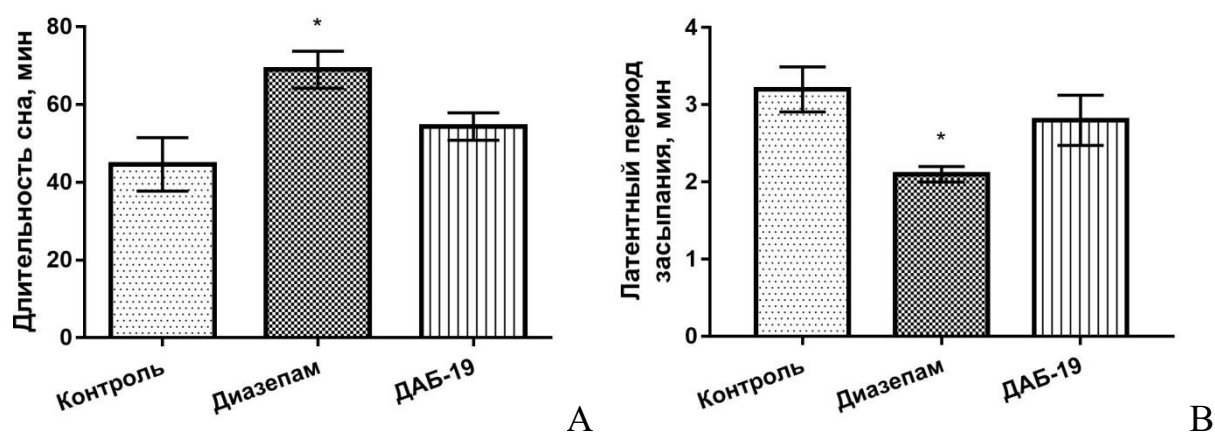


Рисунок 4.8 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепама (5 мг/кг, в/ж) на развитие гипногенного эффекта, вызванного гексеналом (60 мг/кг, в/б), $M \pm m$. А – Длительность сна вызванного гексеналом (мин); В – Латентный период засыпания (мин). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.2.5 Анальгетическое действие соединения

В рамках исследования анальгетического потенциала новых производных диазеинобензимидазола были исследованы свойства веществ с анксиолитическим действием на моделях «Отдергивания хвоста» и «Горячей пластины» в сравнении со структурным аналогом диазепамом (1 мг/кг) и опиоидным анальгетиком буторфанолом (1 мг/кг). Небольшое превышение параметров группы контроля в группе диазепама, вероятно, обусловлено анксиолитическим действием препарата сравнения. В то же время, литературные данные свидетельствуют о некотором собственном анальгетическом действии диазепама [Kaufman et al., 1984]. Для соединения ДАБ-19 не показано обезболивающих эффектов в обоих тестах, что свидетельствует об отсутствии анальгетических свойств соединения ДАБ-19 на спинальном и супраспинальном уровнях действия (рисунок 4.9).

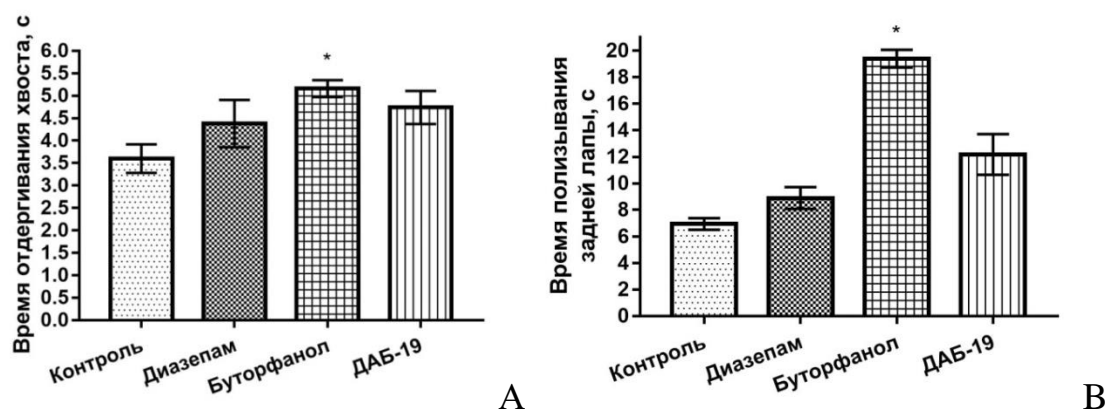


Рисунок 4.9 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б), буторфанолола (1 мг/кг, в/б) и диазепама (1 мг/кг, в/б) на развитие анальгетического действия в тесте «Отдергивания хвоста» (А) и «Горячая пластина» (В), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, one-way ANOVA и посттест Бонферрони)

4.1.2.6 Антикомпульсивное действие соединения

Тест «Закапывания шариков» может применяться для оценки антикомпульсивного потенциала новых соединений [Лебедев и др., 2016; Шабанов и др., 2016; Шабанов и др., 2017]. Для всех изученных производных бензодиазепина – диазепама (1 мг/кг, $2,2 \pm 0,30$), тофизопама (2 мг/кг, $1,8 \pm 0,30$) и соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, $1,6 \pm 0,33$) показан значимый антикомпульсивный

потенциал в рамках проведенного исследования. Показатели указанных групп отличались статистически значимо от группы контроля ($8,8 \pm 1,16$) и находились на одном уровне (рисунок 4.10).

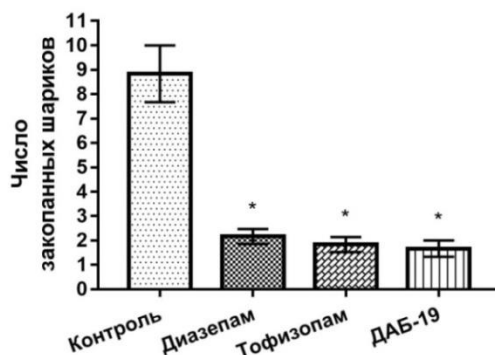


Рисунок 4.10 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), тофизопама (2 мг/кг, в/ж), и диазепам (1 мг/кг, в/ж) на поведение мышей в тесте «Закапывание шариков», $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.2.7 Влияние соединения на зоосоциальное поведение животных

При изучении действия соединения ДАБ-19 на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интродер» было зарегистрировано достоверное изменение числа актов защитного ($5,6 \pm 1,16$) и коммуникативного ($12,4 \pm 1,12$) поведения негативного контроля по сравнению с интактным ($2,1 \pm 0,60$ и $16,0 \pm 3,17$, соответственно), что может быть связано с последствиями стрессированности животных от интрагастрального введения растворителя. Проявление агрессивного поведения снижалось под действием препарата сравнения до $9,2 \pm 2,45$ относительно интактного контроля – $17,3 \pm 3,76$, что является характерной чертой группы бензодиазепинов ($p < 0,05$). Защитное поведение под действием ДАБ-19 практически не наблюдалось ($0,0 \pm 0,01$), однако и показатель агрессивного поведения не только достоверно снижался по отношению к группе интактного контроля - более чем в 10 раз, но и превосходил по эффективности диазепам в 6 раз ($p < 0,05$). Значимых изменений индивидуального и коммуникативного паттернов поведения при применении ДАБ-19 зарегистрировано не было (рисунок 4.11).

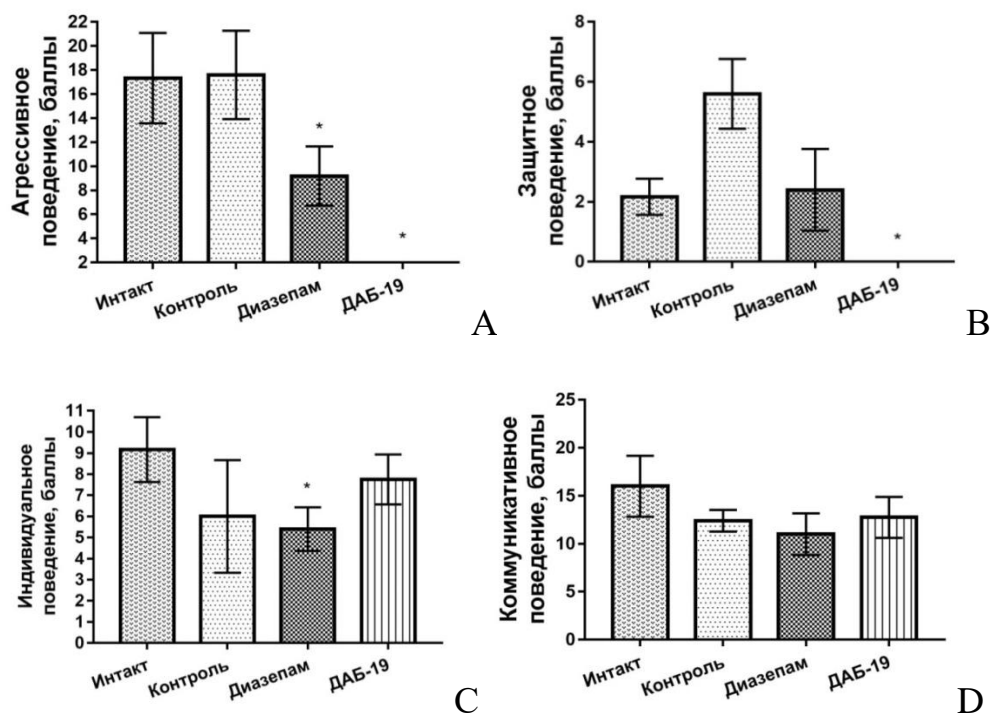


Рисунок 4.11 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на зоосоциальное поведение крыс в тесте «Резидент-интродуер», $M \pm m$. А - Агрессивное поведение; В – Защитное поведение; С – Индивидуальное поведение; D – Коммуникативное поведение. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.2.8 Оценка когнитивных способностей крыс в острой эвристической ситуации под действием соединения

«Тест экстраполяционного избавления» (ТЭИ) позволяет оценить состояние спонтанной двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, когнитивных функций, условно-рефлекторной деятельности, а также уровня эмоционального реагирования животных [Бородкина и др., 2004]. В ходе проведения методики можно также оценить влияние новых соединений на способность животных к обучению и запоминанию [Миронов и др, 2012]. По показателям времени поиска ($6,6 \pm 1,11$ с) и выполнения ($7,8 \pm 1,92$ с) решения показатели крыс группы соединения ДАБ-19 не отличались от контрольных значений, в отличие от диазепама, вызвавшего некоторую заторможенность животных. Таким образом, показатели соединения ДАБ-19 выгодно отличаются

от показателей группы препарата сравнения в условиях данной методики (рисунок 4.12).

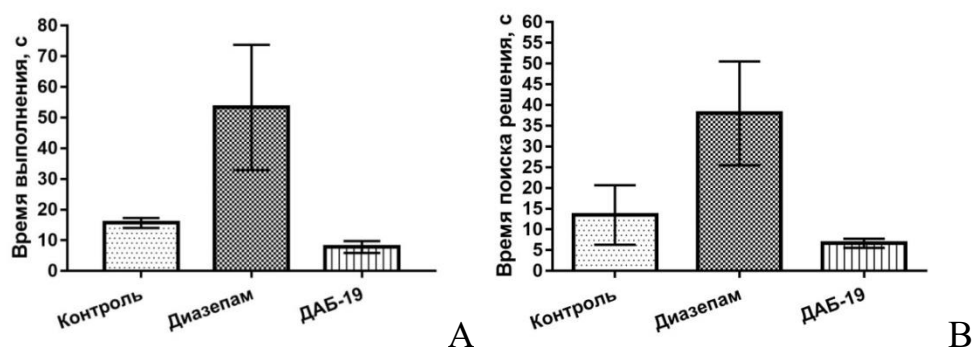


Рисунок 4.12 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепам (1 мг/кг, в/ж) на когнитивные функции крыс в тесте «Острой эвристической ситуации», $M \pm m$. А – Общее время выполнения (с); В – Время поиска решения (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.2.9 Миорелаксирующее действие соединения

Поскольку для производных бензодиазепина характерно отрицательное влияние на мышечный тонус животных и человека, для производного диазепинобензимидазола под шифром ДАБ-19 были исследованы миорелаксирующие свойства. Кроме того, в условиях некоторых из проведенных тестов было показано стимулирующее влияние ДАБ-19 на двигательную активность грызунов. В установке «Актометр» зарегистрировано значимое повышение двигательной активности мышей при введении им соединения ДАБ-19 до $466,3 \pm 10,48$ движений в сравнении с $369,2 \pm 20,2$ в группе контроля (рисунок 4.13 А). В условиях проведенных тестов «Сетка», «Проволока», «Ротарод» не было отмечено значимого влияния соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг на мышечный тонус животных (рисунок 4.13 В - 4.13 D). Можно заключить о присутствии некоторого стимулирующего влияния исследуемого вещества ДАБ-19 на двигательную активность грызунов.

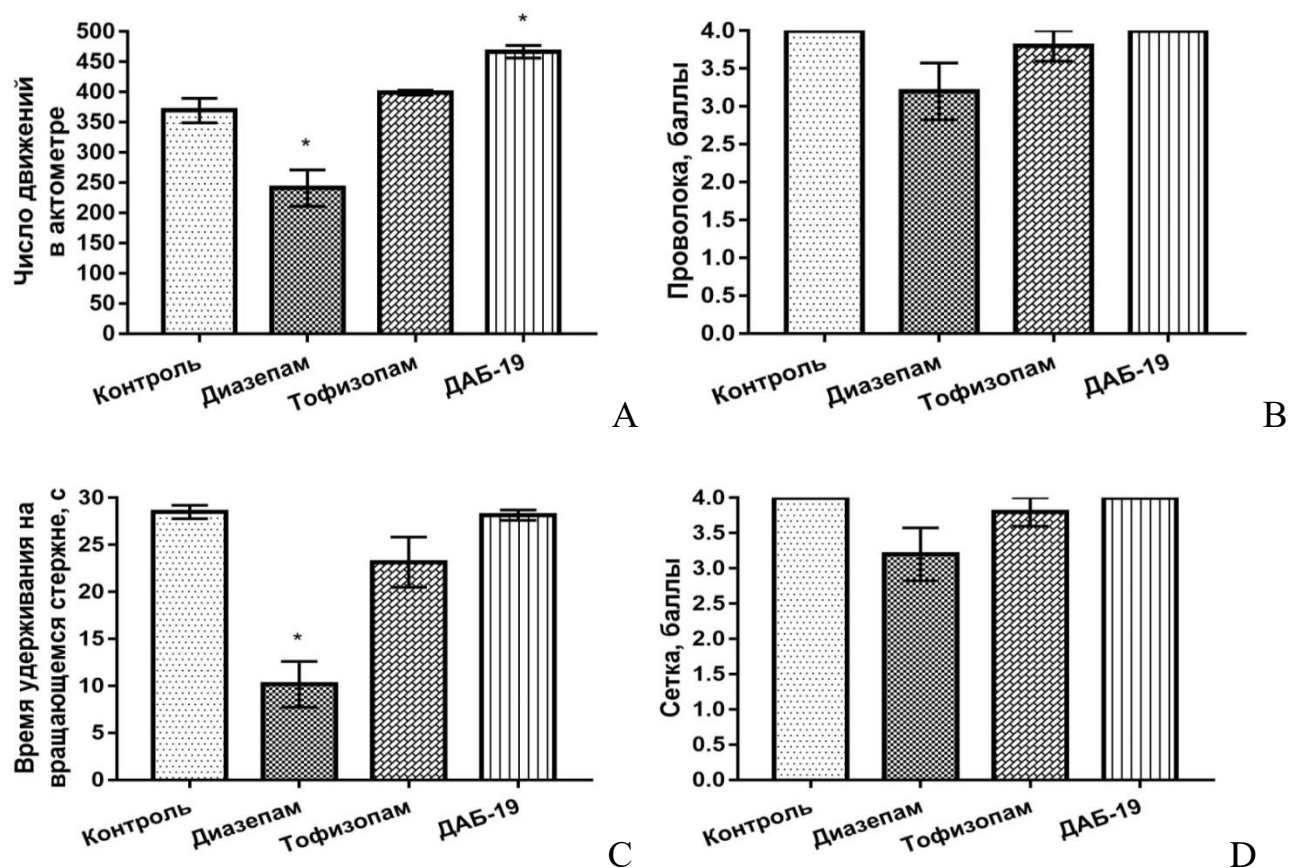


Рисунок 4.13 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), тоfizопоама (2 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на развитие миорелаксации у мышей ($M \pm m$), А – Число движений а тесте «Актометр»; В – Удержание на проволоке; С – Удержание на вращающемся стержне в тесте «Ротарод»; D – Удержание на сетке. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.3 Психотропные свойства соединения при 14-дневном введении

Анксиолитическое действие соединения под шифром ДАБ-19 было сохранено при 14-дневном введении, что является положительным фактором позиционирования нового соединения с противотревожными свойствами. Общее число переходов мышей между рукавами «Приподнятого крестообразного лабиринта» было увеличено под действием соединения ДАБ-19 ($14,0 \pm 0,73$) по сравнению с контролем – $6,5 \pm 1,02$, что свидетельствует о стимулирующем действии субстанции на двигательную активность грызунов (рисунок 4.14).

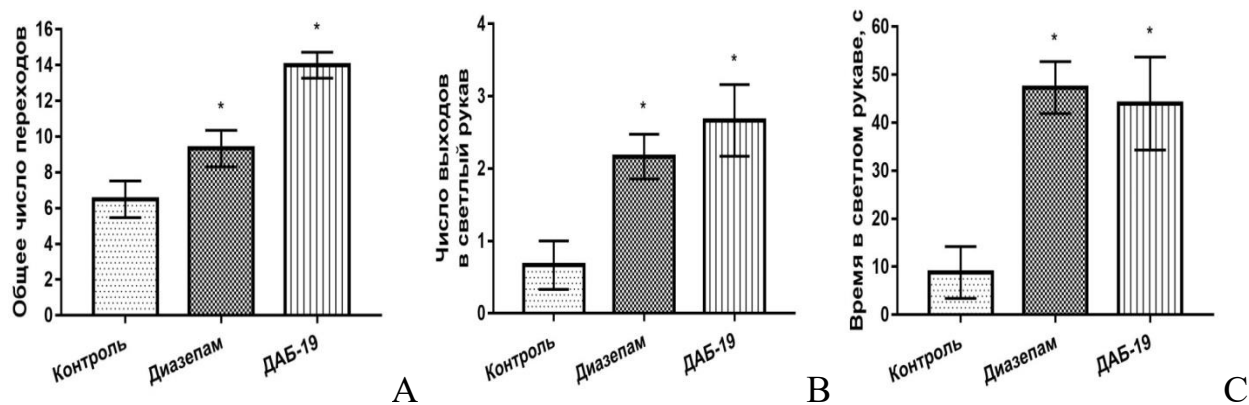


Рисунок 4.14 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепам (1 мг/кг, в/ж) на поведенческую активность мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при 14-дневном введении, $M \pm m$. А – Общее число переходов между рукавами; В – Общее число выходов в светлый рукав; С – Время нахождения в светлом рукаве (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

При исследовании антидепрессивных свойств соединения ДАБ-19 в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» в режиме трехкратного введения в сутки в течение 14 дней значения группы соединения ДАБ-19 ($117,0 \pm 11,9$ с) не отличались от групп контроля ($135,2 \pm 8,29$ с) и диазепам ($133,7 \pm 5,05$ с). Таким образом, ранее показанные умеренные антидепрессивные эффекты соединения ДАБ-19 нивелировались при длительном введении (рисунок 4.15).

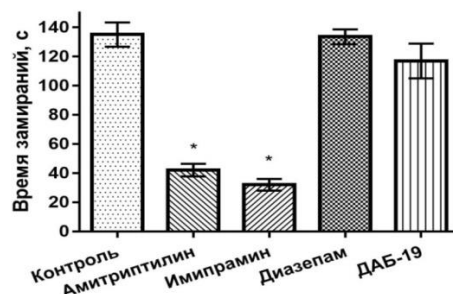


Рисунок 4.15 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), амитриптилина (10 мг/кг, в/ж) и имипрамина (8 мг/кг, в/ж) на поведение мышей в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» при 14-дневном введении, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

При изучении свойств соединения ДАБ-19 в «Открытом поле» при 14-дневном введении число выходов в освещенный центр установки было значимо

повышено ($4,5 \pm 0,50$) в сравнении с контролем – $2,2 \pm 0,40$ (рисунок 4.16 В). Число болюсов, как дополнительный анксиолитический параметр, было также снижено (рисунок 4.16 А). Количество актов короткого груминга, отражающее уровень стрессированности животных, было меньше в группе соединения ДАБ-19 ($0,3 \pm 0,21$) относительно контрольных значений – $2,5 \pm 0,42$ (рисунок 4.16 D). Уровень поисковой активности под влиянием соединения ДАБ-19 ($9,0 \pm 0,96$) соответствовал значениям диазепама – $10,7 \pm 0,88$ (рисунок 4.16 Е). Горизонтальная активность ($101,5 \pm 5,48$) была несколько выше уровня препарата сравнения ($85,5 \pm 9,71$), что согласуется с ранее полученными данными о стимулирующем влиянии соединения ДАБ-19 (рисунок 4.16 G). Сводные данные о проведенном тестировании представлены на рисунке 4.16.

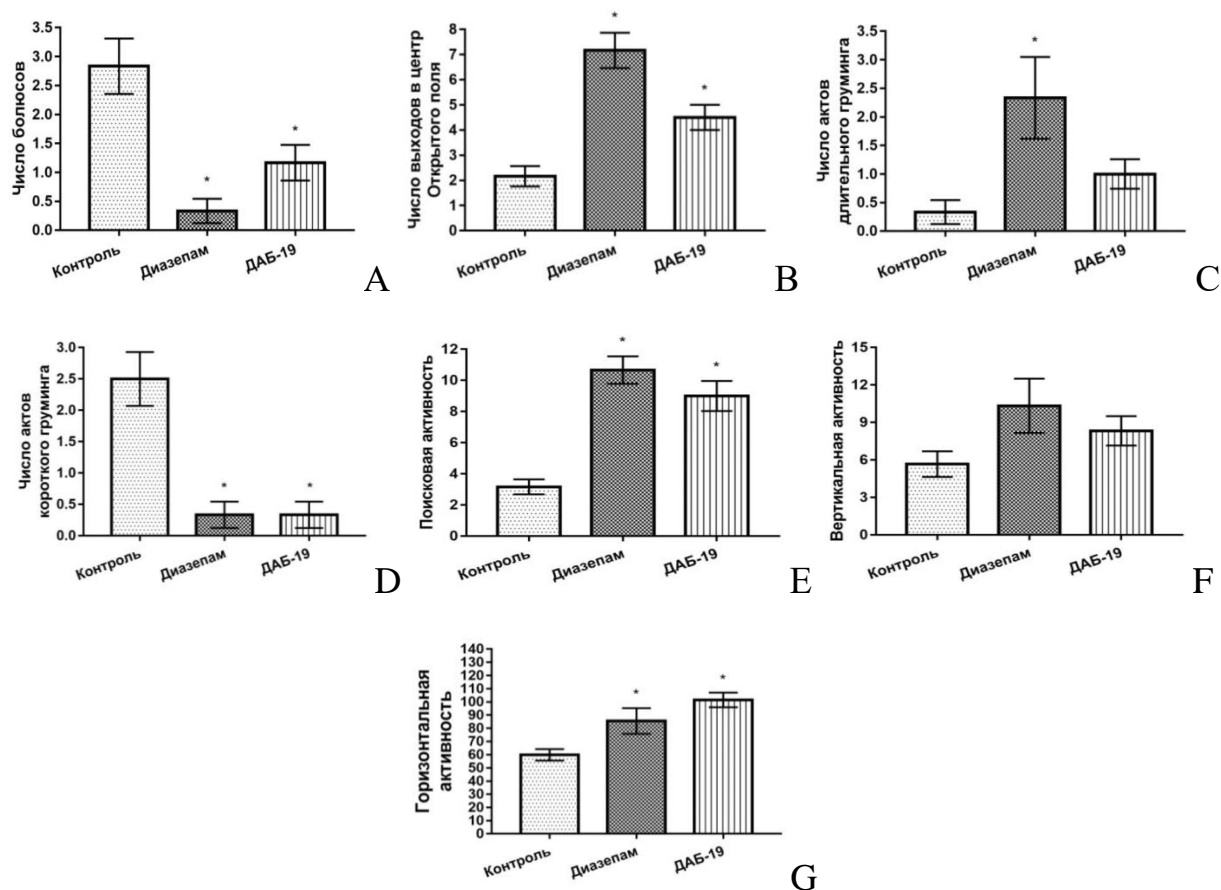


Рисунок 4.16 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведенческую активность мышей в тесте «Открытое поле» при 14-дневном введении, $M \pm m$. А – Общее количество болюсов; В – Общее количество выходов в центр установки; С – Количество длительных актов груминга (более 4 с.); D – Количество коротких актов груминга (менее 4 с.); Е – Количество заглядываний в норки (поисковая активность); F – Количество стоек вертикальная

активность); G – Количество пересеченных квадратов (горизонтальная активность) Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.4 Анксиолитическая активность соединения на модели хронического непредсказуемого легкого стресса

В ходе исследования влияния изучаемых соединений на выраженность поведенческих изменений, вызванных хроническим непредсказуемым легким стрессом (ХНЛС), было показано, что животные, подвергшиеся процедуре ХНЛС, проводили значимо меньше времени в светлых рукавах ПКЛ по сравнению с группой контроля – примерно на 60% (рисунок 4.17). В свою очередь, под влиянием всех изученных препаратов сравнения – амитриптилина (10 мг/кг, $45,2 \pm 5,80$ с), имипрамина (8 мг/кг, $55,0 \pm 5,98$ с), флуоксетина (10 мг/кг, $98,0 \pm 7,49$ с) и афобазола (5 мг/кг, $47,8 \pm 5,54$ с) – наблюдали увеличение продолжительности пребывания животных в светлых рукавах по сравнению с группой ХНЛС – $16,3 \pm 4,56$ с ($p < 0,05$). Под влиянием флуоксетина (10 мг/кг, $98,0 \pm 7,49$ с) и соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, $94,7 \pm 5,71$ с) зарегистрировано значимое различие не только с группой контроля ($40,3 \pm 6,03$ с), но и ХНЛС. Аналогичные результаты были получены и для показателя числа выходов мышей в светлый рукав ПКЛ. Полученные данные согласуются с литературными значениями влияния препаратов сравнения на животных, подвергнутых ХНЛС [Kurhe et al., 2015].

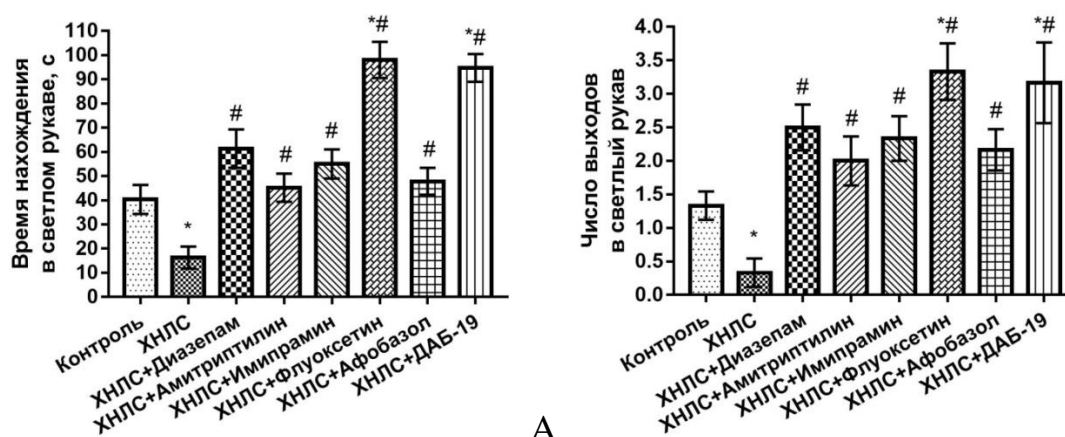


Рисунок 4.17 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), амитриптилина (10 мг/кг, в/ж), имипрамина (8 мг/кг, в/ж), флуоксетина (10 мг/кг, в/ж), афобазола (5 мг/кг, в/ж) на поведенческую

активность мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при моделировании хронического непредсказуемого легкого стресса (ХНЛС), $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве (с), В – Число выходов в светлый рукав. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к группе контроля, # - Данные достоверны по отношению к группе ХНЛС ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.1.5 Заключение

По результатам изучения нейробиологических свойств соединения ДАБ-19 показано, что вещество эффективно в дозах от 0,1 до 4,0 мг/кг, а его минимальная доза, в которой развивается максимальный эффект, равна 2,9 мг/кг. Под влиянием соединения ДАБ-19 противотревожный эффект отмечался уже через 30 минут после введения, выходил на «плато», после чего снижался, и через 12 часов после введения мышам параметры соответствовали контрольным значениям в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». Анксиолитическое действие вещества ДАБ-19 было подтверждено в условиях методик «Темная/светлая камера», «Наказуемое взятие воды по Vogel», «Тревожно-фобическое состояние». В условиях теста «Открытое поле» была отмечена стимуляция горизонтальной и вертикальной двигательной активности мышей под влиянием соединения ДАБ-19. Умеренный антидепрессивный эффект был отмечен в условиях теста «Подвешивание за хвост», но не «Принудительного плавания по Porsolt». Выраженное противосудорожное действие зарегистрировано как в тесте «Максимального электрошока», так и «Коразоловых судорог». Не отмечено гипногенного и анальгетического действий для соединения ДАБ-19. Выявлено благоприятное влияние соединения ДАБ-19 на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интродер», выраженное в сниженных показателях защитного и агрессивного поведения в сравнении с группой контроля. Уровень когнитивных функций и условно-рефлекторной деятельности крыс под влиянием вещества ДАБ-19 в методике «Тест экстраполяционного избегания» соответствовали контрольным значениям, в отличие от его структурного аналога диазепама, вызвавшего заторможенность реакции грызунов. При 14-дневном введении было сохранено анксиолитическое действие соединения ДАБ-19 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», а также стимуляция двигательной

активности в «Открытом поле», но, в то же время, антидепрессивное действие соединения убывало в тесте «Принудительного плавания по Porsolt». На модели хронического непредсказуемого легкого стресса противотревожный эффект соединения ДАБ-19 соответствовал уровню флуоксетина в дозе 10 мг/кг, проявившего наиболее выраженное действие в условиях данного теста.

4.2 Исследование нейропсихотропных эффектов соединения 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2a]бензимидазола дигидрохлорида (ДАБ-21)

В рамках настоящего исследования были изучены анксиолитические («Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темная/светлая камера», «Тревожно-фобическое состояние животных» и «Конфликтная ситуация по Vogel»), поведенческие («Открытое поле»), антидепрессивные («Принудительное плавание по Porsolt», «Подвешивание за хвост»), противосудорожные («Максимальный электрошок», «Коразоловые судороги»), снотворные («Гексеналовый сон»), анальгетические (тест «Отдергивания хвоста», «Горячая пластина»), антикомпульсивные (тест «Закапывания шариков»), когнитивные (тест «Экстраполяционного избегания») свойства соединения ДАБ-21 - 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-a]бензимидазола дигидрохлорида.

4.2.1 Анксиолитическая активность соединения ДАБ-21

Для подтверждения ранее полученных данных об анксиолитическом действии соединения ДАБ-21 был проведен ряд неконфликтных и конфликтных методик, а также изучение длительности эффекта нового вещества и определение эффективной дозы для проявления противотревожного действия. Согласно рекомендациям «Руководства по доклиническому изучению лекарственных средств» [Миронов и др., 2012; Воронина и др., 2012], был сформирован перечень тестов для проверки анксиолитических свойств ДАБ-21: «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темная/светлая камера», «Открытое поле», «Тревожно-фобическое состояние животных» и «Конфликтная ситуация по Vogel».

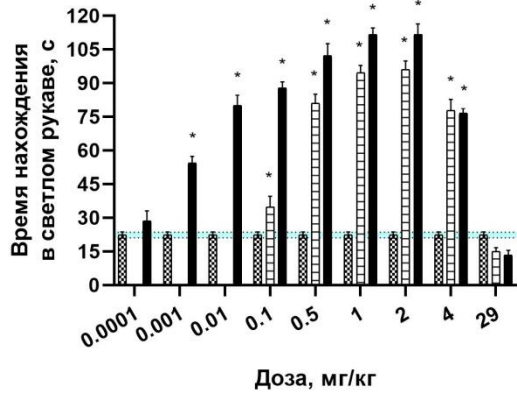
4.2.1.1 Зависимость анксиолитической активности соединения от дозы

Для оценки характера зависимости проявляемого анксиолитического действия соединения ДАБ-21 от выбранной дозы, диапазон доз изучаемого вещества был рассчитан эквимолярно препарату сравнения диазепаму [Таран и др., 2017]. Соединение ДАБ-21 является аналогом диазепама как по проявляемому противотревожному эффекту, так и по химической структуре. Расчет указанных доз приведен в таблице 4.4.

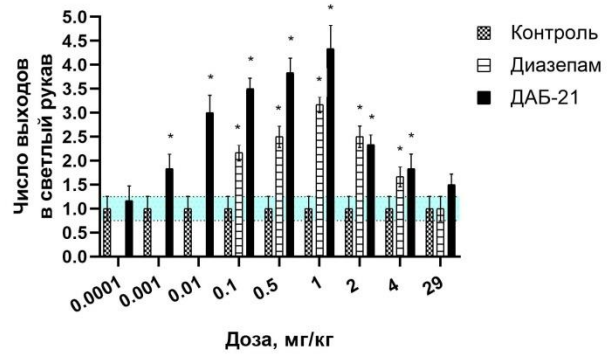
Таблица 4.4 – Эквимолярное соотношение доз диазепама и соединения ДАБ-21

Доза диазепама	Доза соединения ДАБ-21
0,0001	0,00012
0,001	0,0012
0,01	0,012
0,1	0,12
0,5	0,63
1	1,26
2	2,52
4	5,0
29	36,5

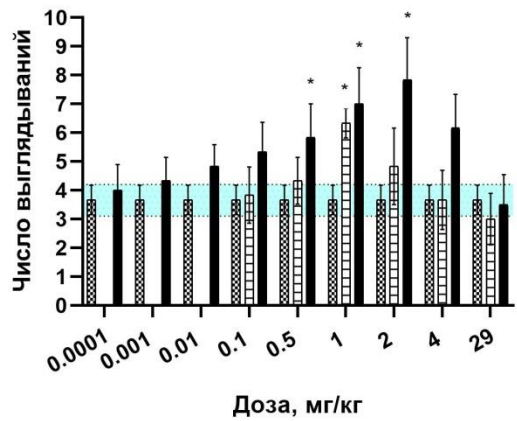
По результатам проведенного исследования показано, что в диапазоне доз 0,00012-36,5 мг/кг диапазон анксиолитической активности соединения ДАБ-21 является более широким, чем у препарата сравнения диазепама. Так, противотревожное действие соединения ДАБ-21 было выражено уже в дозе 0,0012 мг/кг, в то время как для диазепама – только в дозе 0,5 мг/кг. Эффективная доза (минимальная доза, в которой соединение вызывает максимальный уровень противотревожного действия) соединения ДАБ-21 равна 1,26 мг/кг, в которой уровень атарактического действия соединения ДАБ-21 несколько превосходил и группу диазепама (рисунок 4.18).



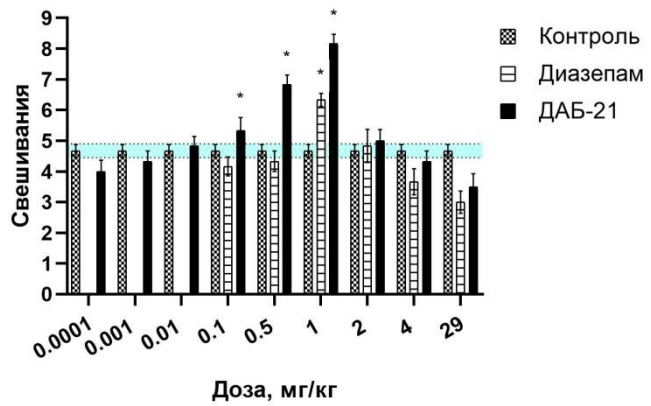
А



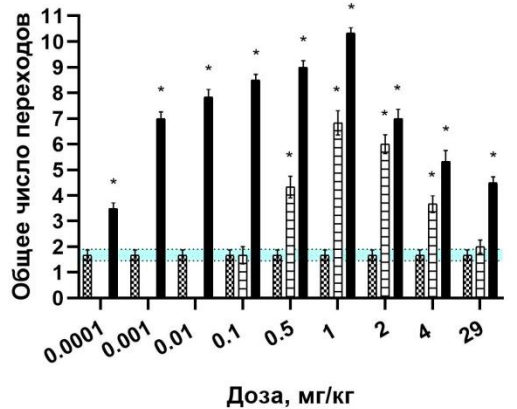
В



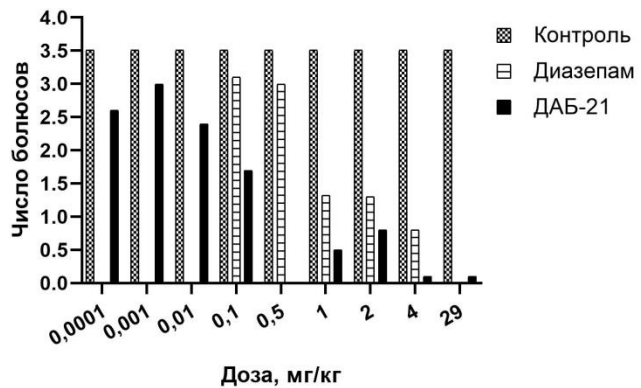
С



D



Е



F

Рисунок 4.18 – Влияние соединения ДАБ-21 (0,00012-36,5 мг/кг, в/ж) и диазепам (0,0001-29 мг/кг, в/ж) на поведение животных в условиях методики «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, внутрижелудочное введение, $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве (с); В – Число выходов в светлый рукав; С – Количество выглядываний; D – Количество свешиваний; Е – Общее число переходов; F – Количество болюсов. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.1.2 Длительность противотревожного действия соединения

В ходе проведенного исследования длительности эффекта соединения ДАБ-21 в тесте ПКЛ показано, что статистически значимое повышение времени и числа выходов животных в светлые рукава установки было отмечено в течение в среднем 8 часов, а на отметке 12-24 часов после введения эффект соединения не отличался от группы контроля (рисунок 4.19). Длительность действия соединения ДАБ-21 составляет около 8-12 часов и уступает диазепаму.

4.2.1.3 Анксиолитическая активность соединения в тестах, основанных на наказуемом и ненаказуемом поведении

Для подтверждения анксиолитической активности соединения ДАБ-21 среди тестов, основанных на ненаказуемом поведении, были выбраны «Темная/светлая камера» и «Тревожно-фобическое состояние животных», а в качестве конфликтной методики выступило «Наказуемое взятие воды по Vogel».

4.2.1.3.1 «Темная/светлая камера»

В ходе изучения анксиолитического действия соединения ДАБ-21 в тесте «Темная/светлая камера» в диапазоне доз 0,6-2,52 мг/кг показано, что во всех исследованных дозах продолжительность нахождения животных в светлом отсеке не уступала препарату сравнения диазепаму ($98,6 \pm 10,29$ с) в дозе 1 мг/кг. Латентное время выхода из отсека ($24,8 \pm 1,21$ с) также было уменьшено относительно групп контроля ($81,1 \pm 18,20$ с) и диазепама ($45,1 \pm 13,16$ с). Двигательная активность животных была выше относительно контрольных значений в диапазоне доз 1,26-2,52 мг/кг ($p < 0,05$). Таким образом, соединение ДАБ-21 проявляет анксиолитическую активность в условиях методики «Темная/светлая камера» в диапазоне доз, эквимолярных диазепаму в дозах 0,5-2 мг/кг (рисунок 4.20).

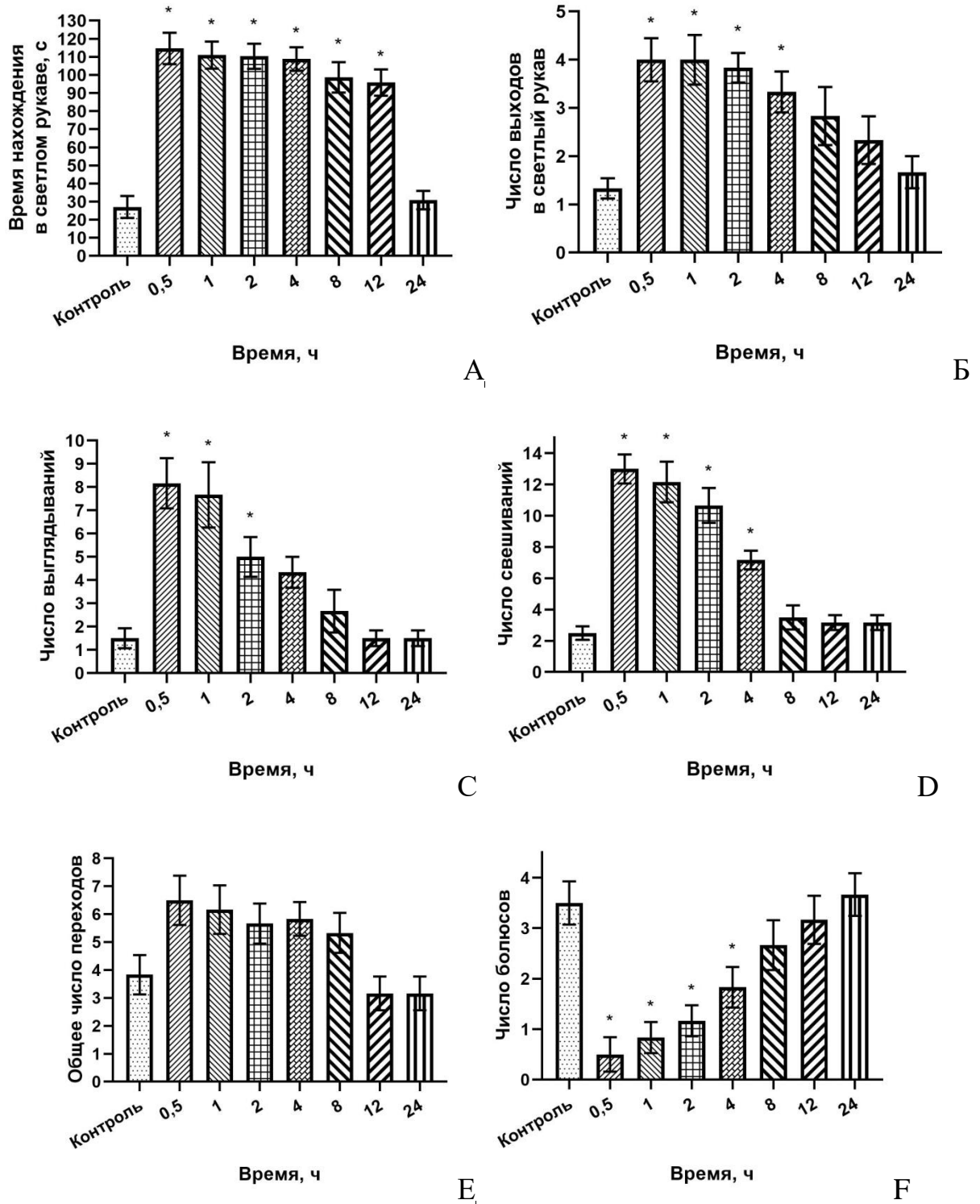


Рисунок 4.19 – Длительность влияния соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на поведение животных в условиях методики «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, внутрижелудочное введение, $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве (с); В – Число выходов в светлый рукав; С – Количество выглядываний; D – Количество свешиваний; Е – Общее число переходов; F – Количество болюсов. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

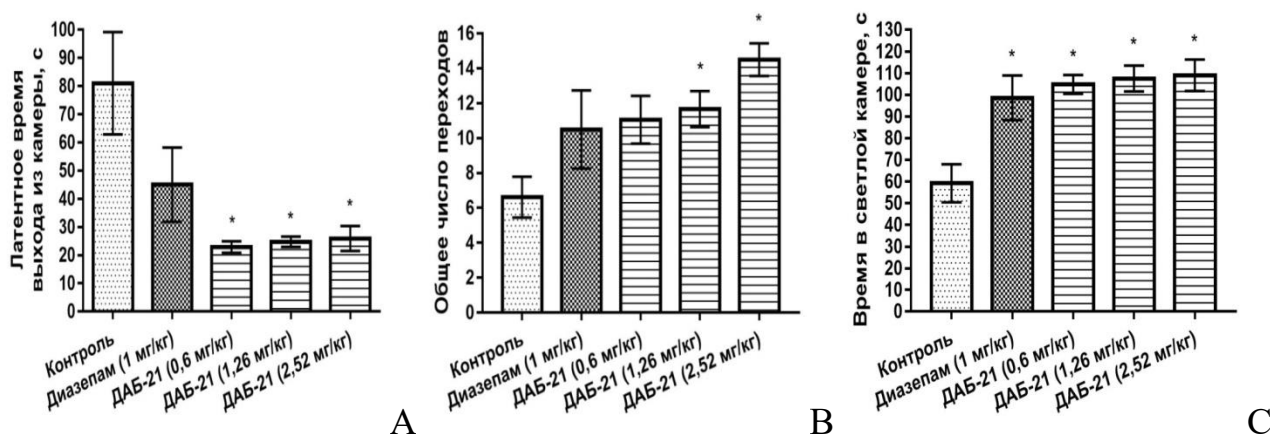


Рисунок 4.20 - Влияние соединения ДАБ-21 (0,6-2,52 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Темная/светлая камера», мыши, $M \pm m$. А – Латентное время выхода и темного отсека (с); В – Общее количество переходов между темной и светлой камерами; С – Общее время нахождения животного в светлой камере (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.1.3.2 «Наказуемое взятие воды по Vogel»

В группе животных под влиянием соединения ДАБ-21 в эффективной дозе 1,26 мг/кг латентное время первого подхода к поилке ($10,0 \pm 2,02$ с), так же, как и время подхода к поилке после первого удара током ($58,8 \pm 19,85$ с), было снижено относительно контроля и находилось на уровне диазепама ($p < 0,05$). Число подходов к поилке ($3,5 \pm 0,42$), как основной показатель теста, было статистически значимо выше под влиянием соединения ДАБ-21 по сравнению с контролем ($1,0 \pm 0,01$) (рисунок 4.21).

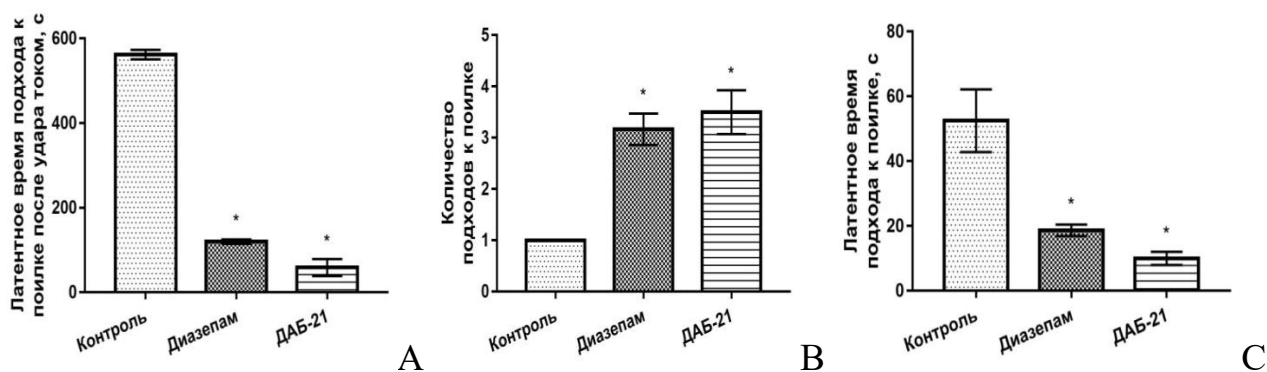


Рисунок 4.21 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel», крысы, внутрижелудочное введение, $M \pm m$. А – Латентное время подхода к поилке после первого удара тока (с); В – Общее количество подходов к поилке после первого удара тока; С – Латентное время подхода к поилке до первого удара тока (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.1.3.3 «Тревожно-фобическое состояние»

Сумма баллов по девяти проведенным тестам в рамках методики «Тревожно-фобическое состояние» животных для соединения ДАБ-21 в дозе 2,52 мг/кг была несколько ниже ($5,8 \pm 0,91$ балл), чем в эффективной дозе 1,26 мг/кг ($7,8 \pm 1,16$ балла), однако статистически незначимо. В дозах 1,26 и 2,52 мг/кг показатели соединения ДАБ-21 не уступали таковым для диазепама ($5,6 \pm 0,59$ балла) и статистически значимо отличались от контрольных значений - $11,8 \pm 0,30$ балла (рисунок 4.22).

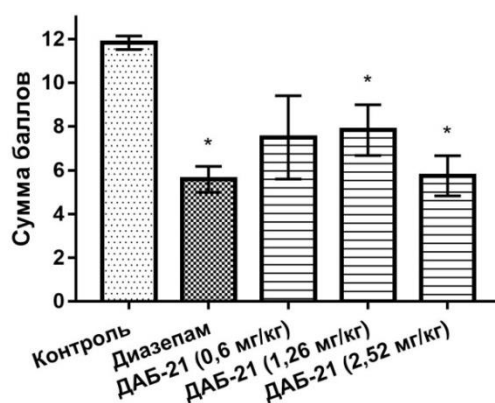


Рисунок 4.22 - Влияние соединения ДАБ-21 (0,6-2,52 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Тревожно фобическое состояние», крысы, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.2 Оценка нейрорепсихотропного профиля соединения ДАБ-21

В рамках расширенного изучения нейрорепсихотропных свойств соединения ДАБ-21 была изучена поведенческая активность животных под его влиянием в тесте «Открытое поле», антидепрессивный эффект в тестах «Подвешивания за хвост» и «Принудительного плавания по Porsolt», противосудорожное действие в тестах «Максимального электрошока» и «Коразоловых судорог», гипногенные свойства в тесте «Гексеналовый сон», анальгетическое действие в тестах «Отдергивания хвоста» и «Горячей пластины», антикомпульсивный эффект в тесте «Закапывания шариков», влияние изучаемого соединения на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интродер», оценка когнитивных способностей крыс в острой эвристической ситуации («Тест экстраполяционного избегания»), а также исследованы психотропные свойства соединения ДАБ-21 при 14-дневном введении в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле» и «Принудительное плавание по Porsolt», и в условиях методики хронического непредсказуемого легкого стресса.

4.2.2.1 Поведенческая активность соединения в тесте «Открытое поле»

Было зарегистрировано повышение двигательной активности мышей в «Открытом поле» по параметрам горизонтальных ($122,7 \pm 1,47$) и вертикальных ($14,0 \pm 1,67$) перемещений. Поисковая активность для группы соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг была практически так же выражена ($7,5 \pm 1,17$). Число выходов грызунов в освещенный центр «Открытого поля», как показатель противотревожного действия соединений в данном тесте, статистически значимо отличалось от контрольных значений в группах диазепама, тофизопама и соединения ДАБ-21 (рисунок 4.23).

4.2.2.2 Антидепрессивная активность соединения

В тестах «Подвешивание за хвост» ($65,3 \pm 8,85$ с) и «Принудительное плавание по Porsolt» ($54,2 \pm 10,76$ с) время замираний животных под действием соединения ДАБ-21 было статистически значимо снижено относительно контрольных значений, как и в группах препаратов сравнения amitриптилина (10 мг/кг) и имипрамина (8 мг/кг). Под влиянием диазепама (1 мг/кг) время замираний животных находилось на уровне группы контроля, что связано с известными миорелаксирующими свойствами производных бензодиазепаина (рисунок 4.24).

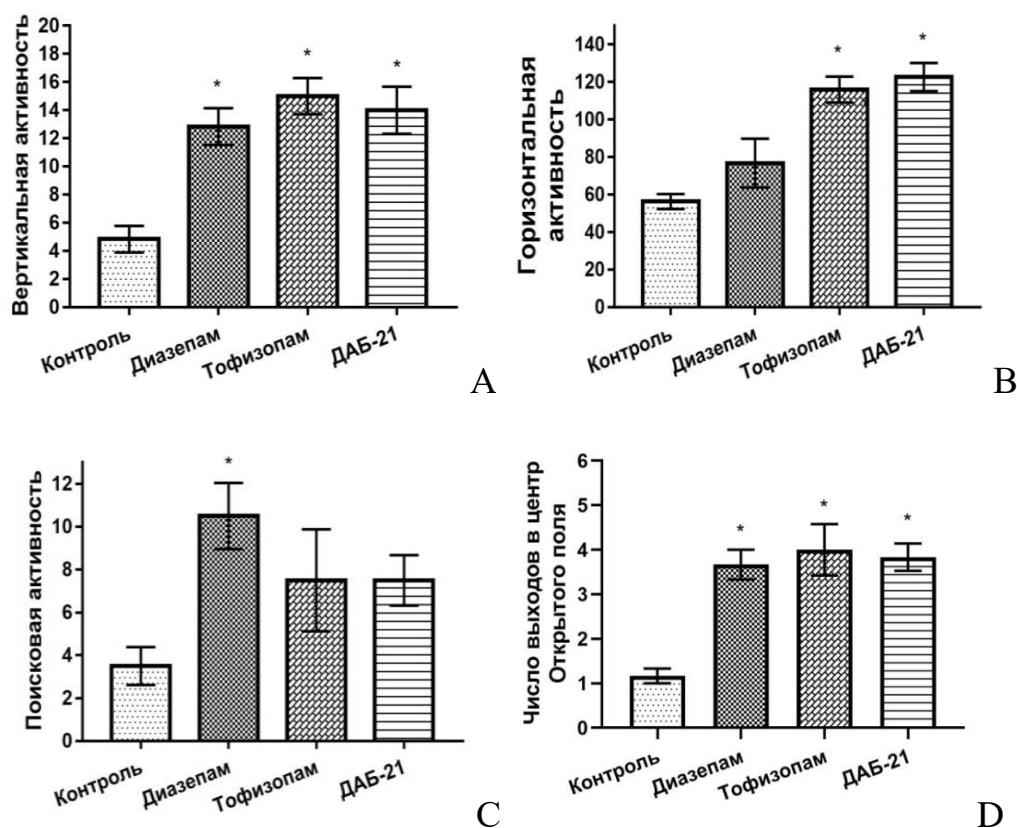


Рисунок 4.23 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Открытое поле», мыши, $M \pm m$. А - Вертикальная двигательная активность (количество стоек); В – Горизонтальная двигательная активность (количество пересеченных квадратов); С – Поисковая активность (количество заглядываний в норки); D - Число выходов в центр «Открытого поля». Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

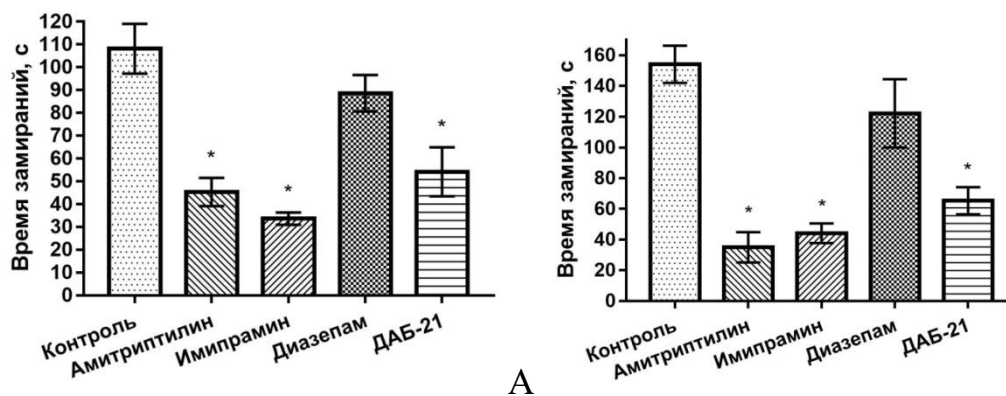


Рисунок 4.24 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), амитриптилина (10 мг/кг, в/ж) и имипрамина (8 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» (А) и «Подвешивания за хвост» (В), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.2.3 Противосудорожная активность соединения

В условиях теста «Максимальный электрошок» число выживших животных для группы соединения ДАБ-21 составило 50%. Не было зарегистрировано значимого противосудорожного эффекта соединения ДАБ-21 в тесте МЭШ (таблица 4.5). В тесте «Коразоловые судороги» умеренный противосудорожный эффект соединения ДАБ-21, скорее всего, связан с наличием в его структуре диазепинового скаффолда. В рамках проведенных тестов противосудорожный эффект изучаемого соединения ДАБ-21 можно охарактеризовать как умеренный на модели «Коразоловых судорог», а на модели «Максимальный электрошок» эффект вещества ДАБ-21 отсутствовал (таблица 4.6).

Таблица 4.5 - Противосудорожная активность соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/б) в тесте «Максимальный электрошок» в сравнении с вальпроевой кислотой (100 мг/кг, в/б), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, t-критерий Стьюдента)

	Летальность, %
Контроль	83,3 (5/6)
Вальпроевая кислота (100 мг/кг)*	16,6 (1/6)*
ДАБ-21 (1,26 мг/кг)	50 (3/6)

Таблица 4.6 - Противосудорожная активность соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/б) в тесте «Коразоловые судороги» в сравнении с диазепамом (2 мг/кг, в/б), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

	Латентное время возникновения судорог, с	Летальность, %
Контроль	$74,5 \pm 14,22$	83,3 (5/6)
Диазепам (2 мг/кг)	-	0
ДАБ-21 (1,26 мг/кг)	$77,0 \pm 7,71$	50,0 (3/6)

4.2.2.4 Гипногенное действие соединения

При проведении теста «Гексеналовый сон» не было отмечено значимого влияния соединения ДАБ-21 на латентный период засыпания мышей ($2,7 \pm 0,33$ минуты в группе ДАБ-21 против $3,2 \pm 0,29$ минут в группе контроля), а также на длительность их сна ($50,8 \pm 7,24$ минуты), индуцированного гексеналом. Для соединения ДАБ-21 не отмечено значимых различий с контрольной группой животных (рисунок 4.25).

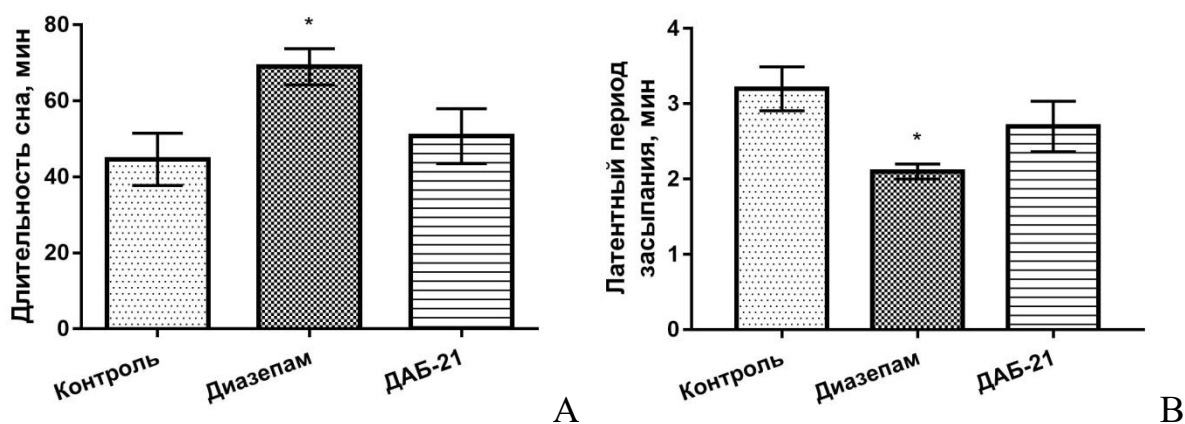


Рисунок 4.25 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (5 мг/кг, в/ж) на развитие гипногенного эффекта, вызванного введением гексенала (60 мг/кг, в/б), $M \pm m$. А – Длительность сна вызванного введением гексенала (мин); В – Латентный период засыпания (мин). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.2.5 Анальгетическое действие соединения

В условиях теста «Отдергивания хвоста», в рамках которого реализуются в основном спинальные механизмы ноцицепции, уровень эффекта соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг ($3,9 \pm 0,51$ с) соответствовал контрольным значениям ($3,6 \pm 0,31$ с). В тесте «Горячая пластина», реализующем преимущественно супраспинальную ноцицепцию, действие соединения ДАБ-21 ($19,0 \pm 0,92$ с) не уступало препарату сравнения буторфанолу ($19,0 \pm 0,65$ с) в дозе 1 мг/кг, значительно отличаясь от групп контроля ($6,9 \pm 0,43$ с) и диазепама – $8,9 \pm 0,82$ с ($p < 0,05$).

4.2.2.6 Антикомпульсивное действие соединения

В тесте «Закапывание шариков» соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг ($0,8 \pm 0,30$) оказывало выраженное антикомпульсивное действие, не уступая по уровню проявляемого эффекта препаратам сравнения диазепаму и тофизопаму (рисунок 4.27).

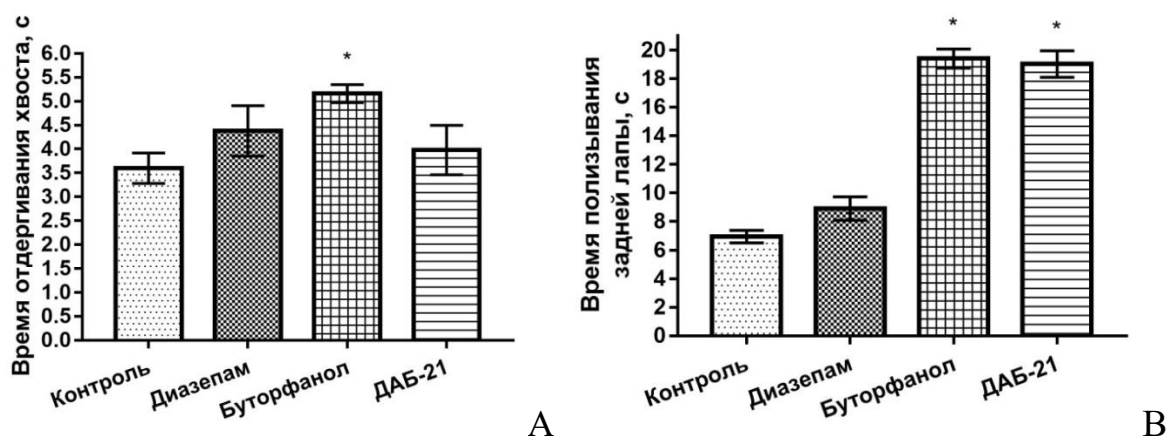


Рисунок 4.26 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/б), буторфанола (1 мг/кг, в/б) и диазепама (1 мг/кг, в/б) на развитие анальгетического действия в тесте «Отдергивания хвоста» (А) и «Горячая пластина» (В), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, one-way ANOVA и посттест Бонферрони)

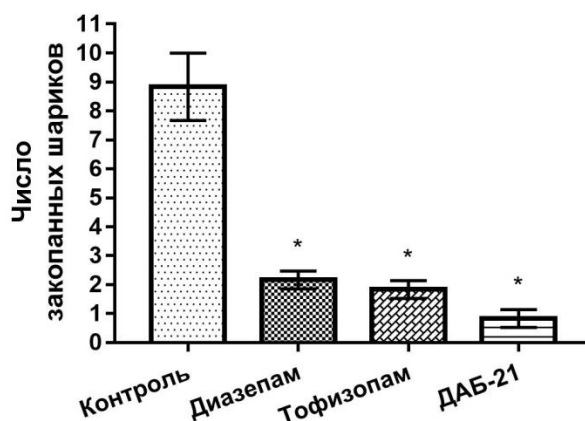


Рисунок 4.27 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), тофизопама (2 мг/кг, в/ж), и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение мышей в тесте «Закапывание шариков», $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.2.7 Влияние соединения на зоосоциальное поведение животных

Выраженность паттернов агрессивного поведения грызунов под действием соединения ДАБ-21 ($4,8 \pm 2,35$) соответствовала таковой для диазепама ($9,2 \pm 2,45$). Защитное поведение в исследуемой группе также соответствовало контрольной группе. Значения индивидуального ($4,2 \pm 1,49$) и коммуникативного поведения ($13,7 \pm 2,09$) под влиянием соединения ДАБ-21 приблизительно соответствовало таковым для контрольной группы животных. Можно отметить снижение агрессивного поведения крыс с сохранением коммуникативных взаимодействий между резидентом и интродером под влиянием соединения ДАБ-21 (рисунок 4.28).

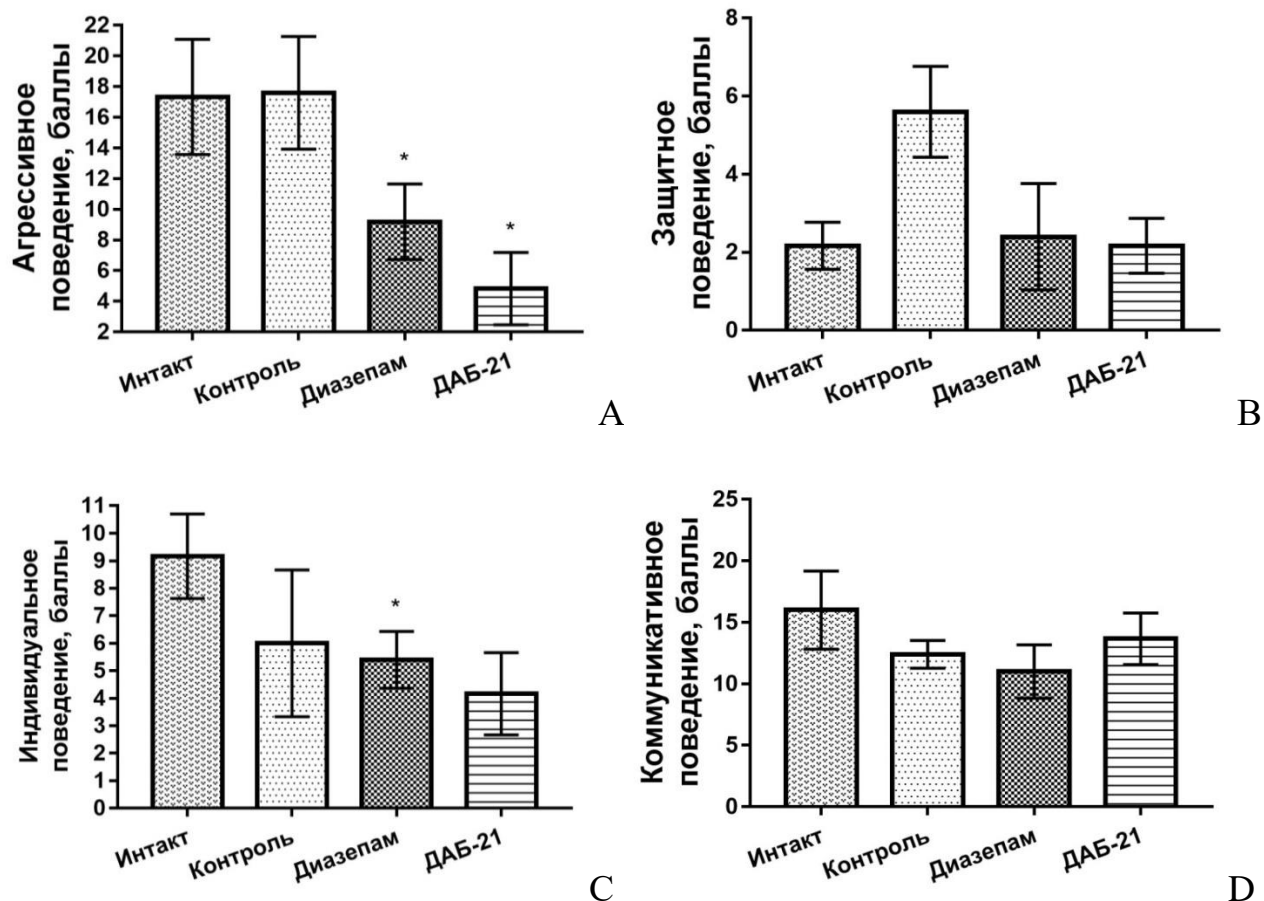


Рисунок 4.28 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на зоосоциальное поведение крыс в тесте «Резидент-интродер», $M \pm m$. А- Агрессивное поведение; В – Защитное поведение; С – Индивидуальное поведение; D – Коммуникативное поведение. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.2.8 Оценка когнитивных способностей крыс в острой эвристической ситуации под действием соединения

«Тест экстраполяционного избавления» (ТЭИ) позволяет оценить состояние спонтанной двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, когнитивных функций, условно-рефлекторной деятельности, а также уровня эмоционального реагирования животных [Бородкина и др., 2004]. В ходе проведения методики можно также оценить влияние новых соединений на способность животных к обучению и запоминанию [Миронов и др, 2012]. По показателям времени поиска ($5,0 \pm 1,29$ с) и выполнения ($8,0 \pm 1,88$ с) решения показатели крыс группы соединения ДАБ-21 не отличались от контрольных

значений, в отличие от диазепама. Таким образом, показатели соединения ДАБ-21 выгодно отличаются от показателей группы препарата сравнения в условиях данной методики (рисунок 4.29).

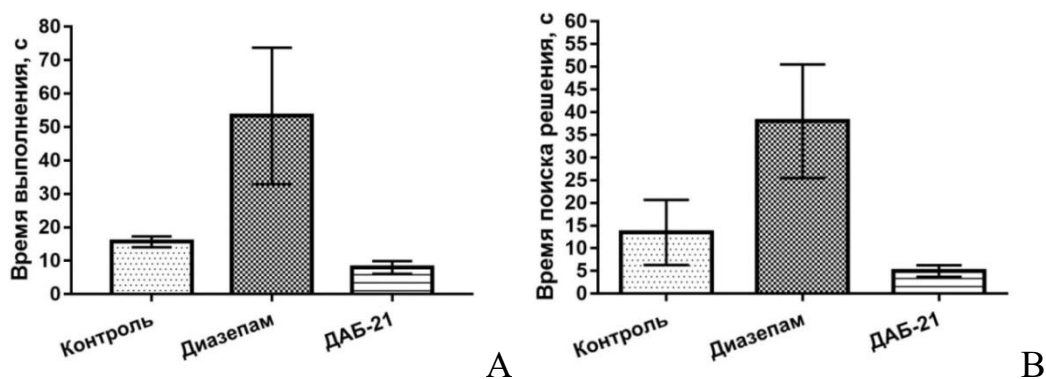


Рисунок 4.29 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на когнитивные функции крыс в тесте «Острой эвристической ситуации», $M \pm m$. А – Общее время выполнения (с); В – Время поиска решения (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.2.9 Миорелаксирующее действие соединения

В отличие от результатов тестирования соединения ДАБ-19, по результатам проведенного теста «Актометр» не отмечено значимого влияния соединения ДАБ-21 на двигательную активность грызунов ($365,7 \pm 20,82$ движения). В тестах «Сетка», «Проволока», «Ротарод» также не было отмечено влияния соединения ДАБ-21 на мышечный тонус животных (рисунок 4.30).

4.2.3 Психотропные свойства соединения при 14-дневном введении

Основные анксиолитические параметры – число выходов в светлый рукав ($5,2 \pm 1,04$) и время, проведенное грызунами в них ($65,0 \pm 6,55$ с), - были значимо повышены под влиянием 14-дневного введения соединения ДАБ-21 в сравнении с группой контроля ($0,6 \pm 0,33$ и $8,8 \pm 5,4$ с). Общее число переходов в установке ПКЛ в опытной группе было также повышено ($17,3 \pm 1,56$) в сравнении с группой интактного контроля ($6,5 \pm 1,02$). Анксиолитическое действие соединения ДАБ-21 было сохранено при двухнедельном введении вещества (рисунок 4.31).

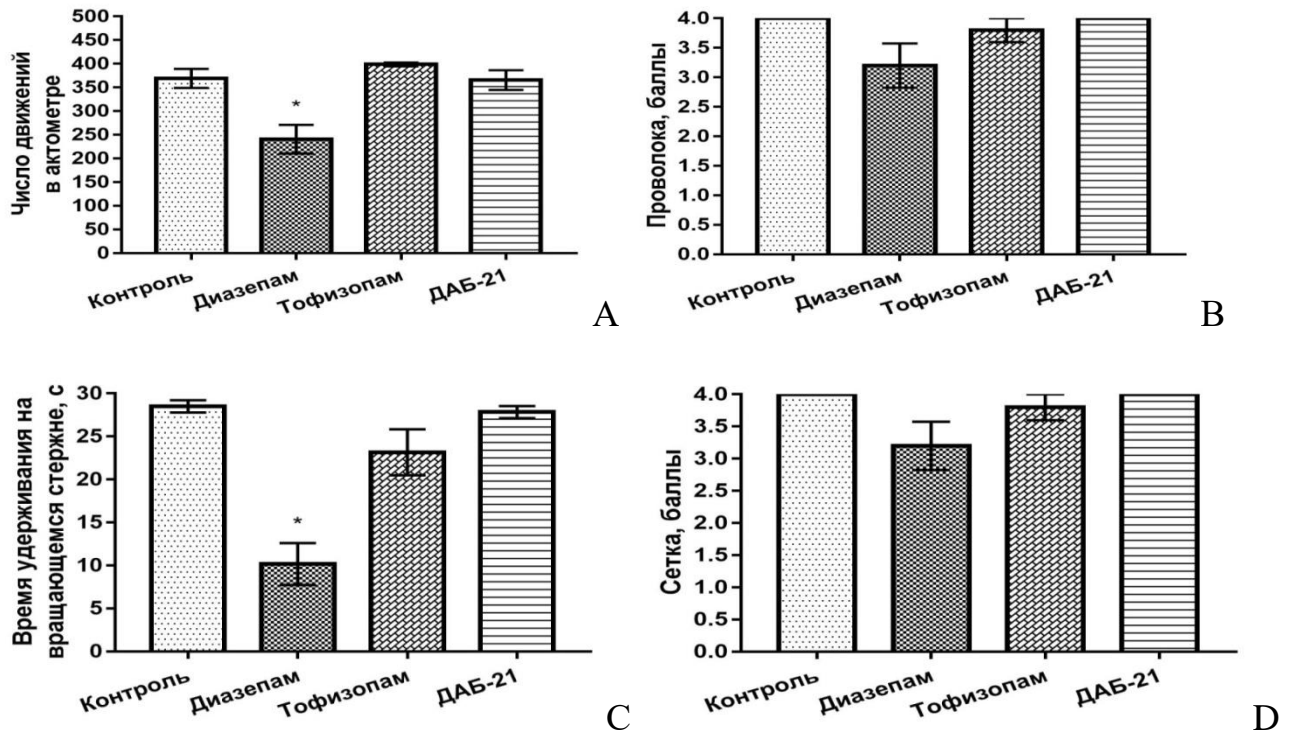


Рисунок 4.30 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг, в/ж), тофизопاما (2 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на развитие миорелаксации у мышей ($M \pm m$), А – Число движений а тесте «Актометр»; В – Удержание на проволоке; С – Удержание на вращающемся стержне в тесте «Ротарод»; D – Удержание на сетке. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

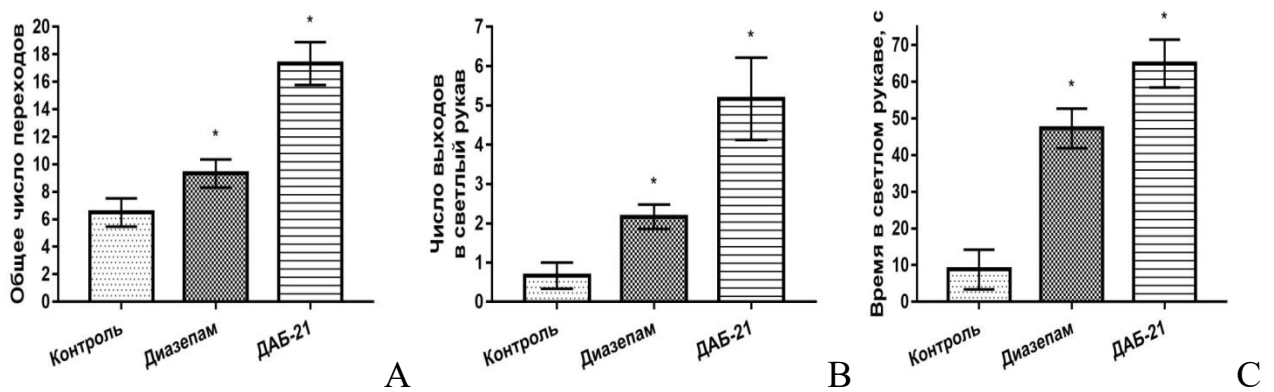


Рисунок 4.31 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведенческую активность мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при 14-дневном введении, $M \pm m$. А – Общее число переходов между рукавами; В – Общее число выходов в светлый рукав; С – Время нахождения в светлом рукаве (с). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Антидепрессивный потенциал соединения ДАБ-21 в условиях методики «Принудительного плавания по Porsolt» при 14-дневном введении был сохранен ($67,2 \pm 12,09$ с) на уровне препаратов сравнения amitриптилина (10 мг/кг, $42,2 \pm 4,30$ с) и имипрамина (8 мг/кг, $32,0 \pm 4,01$ с). Длительное введение соединения ДАБ-21 с целью коррекции депрессивных состояний выглядит перспективным (рисунок 4.32).

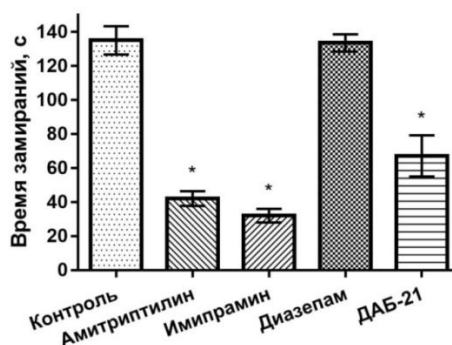


Рисунок 4.32 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), amitриптилина (10 мг/кг, в/ж) и имипрамина (8 мг/кг, в/ж) на поведение мышей в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» при 14-дневном введении, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

При исследовании соединения ДАБ-21 в тесте «Открытое поле» при двухнедельном введении показано, что анксиолитические параметры – число выходов в центр установки ($5,0 \pm 0,57$) и число болюсов ($0,5 \pm 0,22$) – значимо отличались от контрольных значений ($2,2 \pm 0,40$ и $2,8 \pm 0,47$, соответственно), что свидетельствует о сохранении анксиолитического потенциала соединения ДАБ-21 при длительном введении. В то же время, показатель горизонтальной двигательной активности был повышен под влиянием соединения ДАБ-21 до $121,5 \pm 4,46$ относительно контроля – $59,8 \pm 4,36$ (рисунок 4.33).

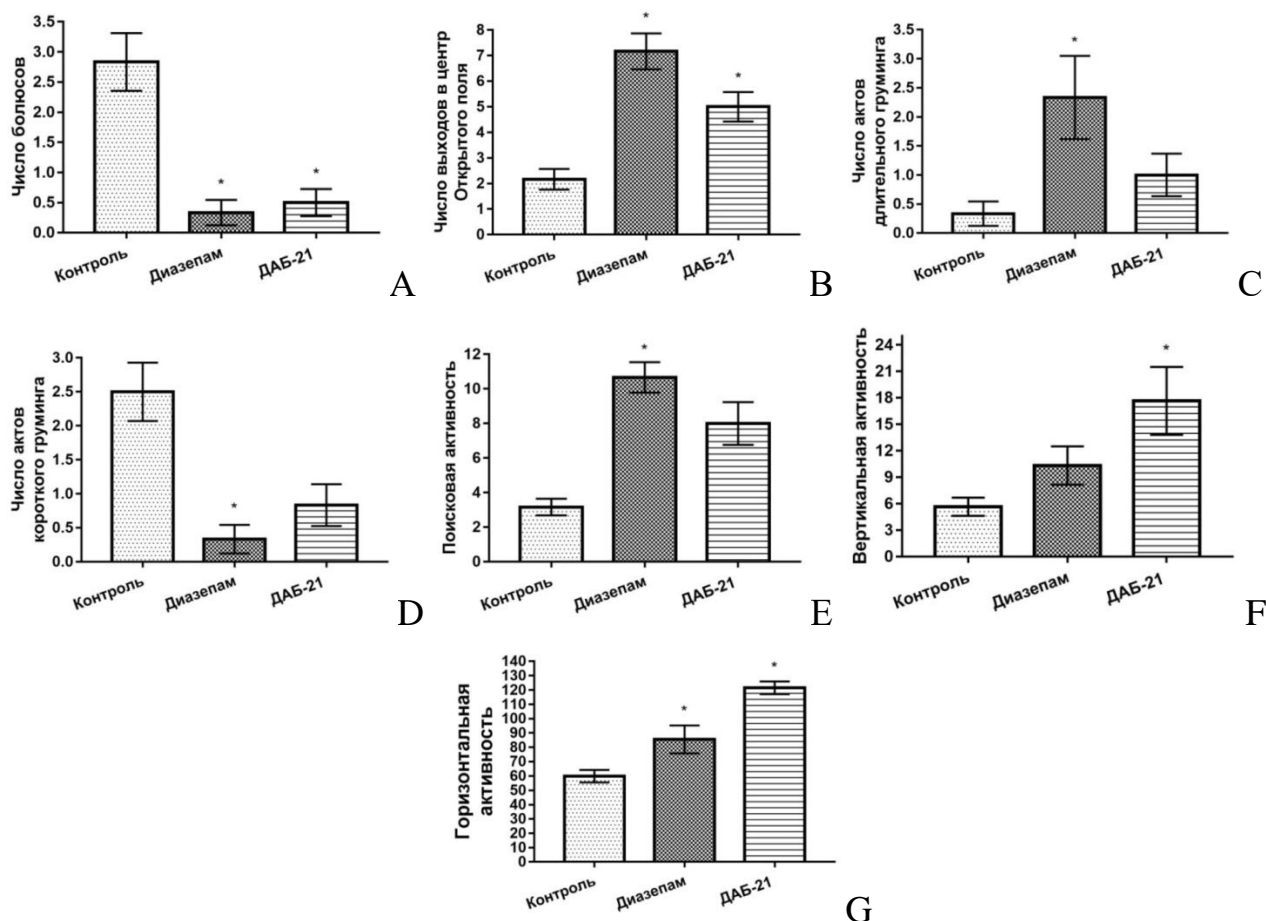


Рисунок 4.33 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведенческую активность мышей в тесте «Открытое поле» при 14-дневном введении, $M \pm m$. А – Общее количество болюсов; В – Общее количество выходов в центр установки; С – Количество длительных актов груминга (более 4 с.); D – Количество коротких актов груминга (менее 4 с.); Е – Количество заглядываний в норки (поисковая активность); F – Количество стоек (вертикальная активность); G – Количество пересеченных квадратов (горизонтальная активность). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.4 Анксиолитическая активность соединения

на модели хронического непредсказуемого легкого стресса

Под влиянием соединения ДАБ-21 было отмечено повышение числа выходов светлый рукав ($3,0 \pm 0,57$) и времени нахождения в светлом рукаве ($82,7 \pm 5,81$ с), подвергнутыми процедуре ХНЛС, в светлых рукавах установки ПКЛ. Эффект, полученный в экспериментальной группе, не только значимо превышал показатели негативного контроля (ХНЛС), но и интактной группы. В целом, противотревожный потенциал соединения ДАБ-21 сохранялся и

коррелировал с результатами, полученными на интактных животных (рисунок 4.34).

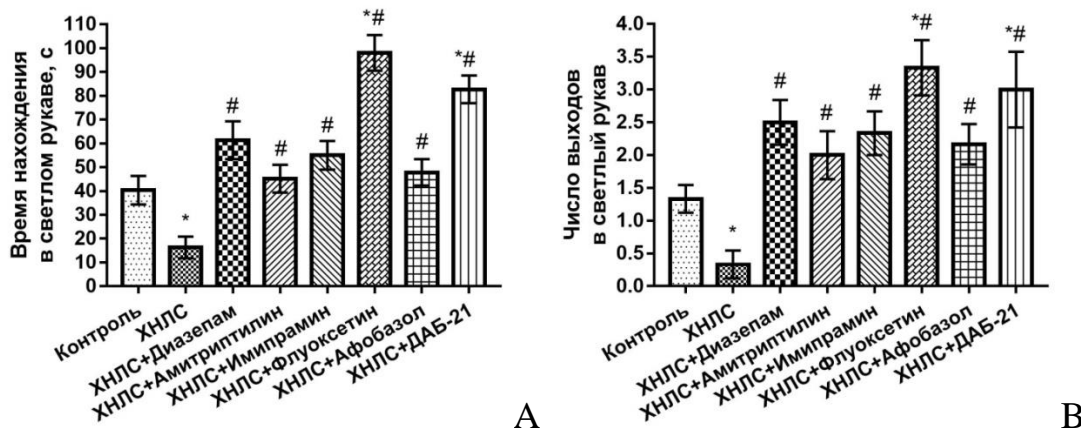


Рисунок 4.34 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), amitриптилина (10 мг/кг, в/ж), имипрамина (8 мг/кг, в/ж), флуоксетина (10 мг/кг, в/ж), афобазола (5 мг/кг, в/ж) на поведенческую активность мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при моделировании хронического непредсказуемого легкого стресса (ХНЛС), $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве (с), В – Число выходов в светлый рукав. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к группе контроля, # - Данные достоверны по отношению к группе ХНЛС ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

4.2.5 Заключение

По результатам изучения нейropsychotropic свойств соединения ДАБ-21 показано, что вещество эффективно в дозах от 0,001 до 4,0 мг/кг. Под влиянием соединения ДАБ-21 уровень противотревожного эффекта был выражен уже через 30 минут после введения, длился около 8 часов, а через 12 часов противотревожные параметры соответствовали контрольным значениям в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». Анксиолитическое действие вещества ДАБ-21 было подтверждено в условиях методик «Темная/светлая камера», «Наказуемое взятие воды по Vogel», «Тревожно-фобическое состояние». В условиях теста «Открытое поле» была отмечена стимуляция горизонтальной двигательной активности мышей под влиянием соединения ДАБ-21. Выраженный антидепрессивный эффект соединения ДАБ-21 был отмечен как в условиях теста «Подвешивание за хвост», так и

«Принудительного плавания по Porsolt», не уступая уровню препаратов сравнения амитриптилина и имипрамина. Умеренное противосудорожное действие зарегистрировано в тесте «Коразоловых судорог», но не «Максимального электрошока». Анальгетическое действие для соединения ДАБ-21 было зарегистрировано в тесте «Горячей пластины». Выявлено благоприятное влияние соединения ДАБ-21 на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интродер», выраженное в сниженных показателях агрессивного поведения с сохранением коммуникативного потенциала. Уровни когнитивных функций и условно-рефлекторной деятельности крыс под влиянием вещества ДАБ-21 в методике «Тест экстраполяционного избегания» соответствовали контрольным значениям, в отличие от его структурного аналога диазепама, вызвавшего заторможенность реакции грызунов. При 14-дневном введении было сохранено анксиолитическое действие соединения ДАБ-21 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» и антидепрессивное действие в тесте «Принудительного плавания по Porsolt». На модели хронического непредсказуемого легкого стресса противотревожный эффект соединения ДАБ-21 был выражен.

4.2.5 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатом второго этапа исследования было изучение психотропных эффектов наиболее активных соединений производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола ДАБ-21 и ДАБ-19. В главе 3 было показано, что соединения лидеры по уровню анксиолитической активности в скрининговой дозе не только не уступают препарату диазепаму, в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», но и несколько превосходят его по показателям времени пребывания в открытом рукаве в 1,7 (ДАБ-21) и 1,6 (ДАБ-19) раза. Выполненные исследования подтвердили противотревожный профиль выбранных соединений. Так, ДАБ-21 и ДАБ-19 оказывали анксиолитическое действие в базовых поведенческих тестах («Открытое поле», «Темная/светлая камера» и «Наказуемое взятие воды по Vogel»), где эффекты сопоставимы с результатами диазепама в дозе 1 мг/кг. Эффект сохраняется и в более сложных моделях («Тревожно-фобическое

состояние», «Резидент-интродер» и «Хронического непредсказуемого легкого стресса»), а также при 14-дневном введении веществ. Антифобическое действие показано в тесте «Закапывание шариков». Стоит отметить некоторое различие в длительности проявляемого анксиолитического действия веществ, так эффект соединения ДАБ-21 наблюдается в течение 12 часов, а ДАБ-19 4-6 часов. Зависимость противотревожной активности ДАБ-21 также несколько шире в диапазоне от 0,001 до 4 мг/кг, в то время как для ДАБ-19 она составляет 0,1 – 4 мг/кг, что более соответствует диапазону доз диазепам.

Более интересным является сравнение сопутствующих психотропных эффектов двух соединений. Исследования проведены с использованием наиболее характерных поведенческих тестов. Различия наблюдались уже в первой группе тестов изучающих возможные антидепрессивные эффекты. ДАБ-21 уверенно нивелировал продепрессивные паттерны в поведении животных в тестах «Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание за хвост». ДАБ-19 оказывал антидепрессивное действие только в тесте «Подвешивание за хвост». Стоит отметить, что вещества после длительного 14-дневного введения сохраняли оказываемые при однодневном введении эффекты. Позднее для ДАБ-19 показано повышение двигательной активности в тесте «Актометр», что возможно указывает, на то что полученный антидепрессивный эффект вещества в тесте «Подвешивание за хвост» является ложно положительным результатом.

Противосудорожный профиль был изучен на двух тестах «Максимальный электрошок» и «Коразоловые судороги». Для ДАБ-21 исследуемой активности выявлено не было. Но ДАБ-19 оказывал противосудорожный эффект в обоих тестах.

Анальгетическое действие было протестировано с использованием моделей оценивающих спинальное и супраспинальное действия. Как и диазепам новые вещества не оказывали эффектов в тесте «Отдергивание хвоста». Однако в тесте «Горячая пластина» для соединения ДАБ-21 показано умеренное действие.

Экспериментальные вещества не оказывали негативного действия на когнитивные эффекты в отличие от диазепам, который изменял таковые в тесте

«Острая эвристическая ситуация». В тесте зоосоциального поведения («Резидент-интродер») имели сходный профиль действия на животных, снижая агрессивность и защитные поведения у крыс, но не влияя на индивидуальные и коммуникативные типы поведения.

В целом можно выделить следующие спектры поведения животных под влиянием исследуемых веществ:

ДАБ-21 – выраженные анксиолитический и антидепрессивный эффекты, антиагрессивное действие и возможная некоторая анальгетическая активность;

ДАБ-19 – выраженные анксиолитический и противосудорожный эффекты, антиагрессивное действие и возможная некоторая психостимулирующая активность.

ГЛАВА 5. МЕХАНИЗМЫ АНКСИОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 11*H*-[1,3]ДИАЗЕПИНО[1,2-а]БЕНЗИМИДАЗОЛА

На первом этапе проведен *in silico* прогноз спектра таргетной активности для ряда производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола методом максимального сходства к эталонам и в системе PASS online, включающей соединения под шифрами ДАБ-19 и ДАБ-21. После определения приоритетных эффектов пул активностей был расширен, и проведен фармакологический анализ *in vivo*, а также изучение механизации действия методами *in vitro* для каждого изучаемого соединения отдельно.

5.1.1 Прогноз возможных механизмов действия для производных 11*H*- [1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола

Для предварительной оценки спектра возможных механизмов действия производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола был выполнен прогноз спектра таргетной активности веществ методом максимального сходства к эталонам с применением ПО Microcosm BioS. Были проанализированы свойства 625888 структур, выбрано 10 ближайших структурных эталонов и выполнена сортировка по средним индексам активности для каждой мишени.

Сводные данные проведенного анализа представлены в таблице 5.1. Спрогнозированные механизмы согласуются с существующими представлениями о механизмах действия веществ с анксиолитической активностью, описанными в главе 1. Возможные противотревожные механизмы производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола достаточно разнообразны и включают 27 мишеней и 11 систем. Глутаматергическая активность была одной из наиболее вероятных для производных базовой структуры diaзепинобензимидазола. Начиная со второй позиции, показатели были довольно близки друг к другу. Наибольшее количество мишеней относилось к моноаминовой нейротрансмиссии (13) и хлорным ионным каналам (6). Полученные данные соотносятся с общими представлениями и эмпирическими прогнозами в отношении изучаемого класса соединений, учитывая сочетание diaзепинового и бензимидазолового scaффолдов. Наиболее вероятной была серотониновая активность в отношении

1A, 2C, 2A, 4B и 7 подтипов рецепторов. Адренергические эффекты возможны в отношении α_1 и α_2 рецепторов. В отношении возможной ГАМК-ергической активности стоит отметить, что все выделенные рецепторы являются различными комбинациями субъединиц [Zecharia et al., 2012]. Так, $\alpha_6/\beta_3/\gamma_2$ комбинация преимущественно экспрессируется в гранулярных клетках мозжечка млекопитающих. Они составляют менее 5% всех ГАМК-рецепторов в головном мозге, а также слабо чувствительны к классическим бензодиазепинам [Fagiolini et al., 2004]. Рецепторы ГАМК, содержащие α_1 субъединицу, проявляющую наибольшую экспрессию в латеральном ядре миндалевидного тела, и α_3 с наибольшей экспрессией во вставочных ядрах миндалевидного тела и основании гиппокампа, могут быть мишенями для лечения нарушений, связанных с миндалевидным телом [Stefanits et al., 2018]. В связи с этим обоснованным является наличие в прогнозе комбинаций $\alpha_3/\beta_2/\gamma_2$ и $\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$. Присутствие в указанных комбинациях γ_2 субъединицы обуславливает, помимо анксиолитических, стойкие антидепрессивные эффекты [Fuchs, 2017]. Наличие β_2 и β_3 субъединиц связано с позитивной аллостерической модуляцией открытия хлорного канала посредством использования небензодиазепиновых препаратов на примере этифоксина (производного бензоксазина) [Walter-Nicolet et al., 2017]. Однако в представленных результатах прогнозной оценки отсутствует наиболее распространённая композиция $\alpha_1/\beta_2/\gamma_2$, составляющая около 60% всех ГАМК-рецепторов [Mohler et al., 2002].

Следующим этапом было прогнозирование возможных механизмов анксиолитического действия в системе PASS online. Программа осуществляет прогноз спектра биологической активности соединений на основе их двухмерной структуры [Даиров и др., 2015; Поройков и др., 2004]. Спрогнозированные таким образом результаты имеют свои ограничения: прежде всего они связаны с новизной дескрипторов в структуре соединений, что снижает уровень достоверности и точности прогноза. Однако сам метод позволяет предположить основные направления для поиска возможных механизмов анксиолитических эффектов соединений.

Таблица 5.1 – Результаты прогноза спектра рецепторной активности методом максимального сходства к эталонам

Мишень	Система	Tmean	IndMean
NMDA	глутаматергическая	0,354	3,8
5-НТ _{1A}	серотонинергическая	0,189	2,7
α_{2b}	адренергическая	0,356	2,65
VMAT _{1,2}	везикулярные аминотранспортеры	0,18	2,5
H ₁	гистаминергическая	0,406	2
α_1	адренергическая	0,302	1,9
GABA _{$\alpha_6/\beta_3/\gamma_2$}	ГАМК-ергическая	0,252	1,8
5-НТ _{2C}	серотонинергическая	0,47	1,56
α_{1a}	адренергическая	0,356	1,56
GABA _{$\alpha_3/\beta_2/\gamma_2$}	ГАМК-ергическая	0,265	1,5
GABA _{$\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$}	ГАМК-ергическая	0,286	1,4
5-НТ _{2A}	серотонинергическая	0,487	1,25
GABA _{β_3}	ГАМК-ергическая	0,23	1,14
5-НТ _{4B}	серотонинергическая	0,316	1,07
5-НТ ₇	серотонинергическая	0,275	1
α_{2a}	адренергическая	0,192	1
AT _{1A/1B}	ангиотензиновая	0,196	1
Na-каналы	ионные каналы	0,195	1
GABA _{$\alpha_3/\beta_3/\gamma_2$}	ГАМК-ергическая	0,335	0,9
5-НТ _{1D}	серотонинергическая	0,338	0,8
GABA _{$\alpha_4/\beta_2/\gamma_2$}	ГАМК-ергическая	0,26	0,79
Кортикотропин- рилизинг фактор	гипоталамо-гипофизарно- надпочечниковая	0,408	0,71
MT _{1,2}	мелатониновая	0,406	0,61
Карбоангидраза 4	ферментная	0,218	0,5
5-НТ ₆	серотонинергическая	0,183	0,2
5-НТ _{1B}	серотонинергическая	0,336	0,1
5-НТ _{2C}	серотонинергическая	0,384	0,1

Было спрогнозировано до 90 возможных путей реализации эффектов для соединения ДАБ-21. После анализа полученных результатов были выделены наиболее вероятные эффекты (таблица 5.2), ассоциированные с противотревожными механизмами действия. Среди значительного многообразия проявляемых эффектов не рассматривались возможные влияния на ферментативную активность и другие неконкретизированные прогнозные механизмы.

Таблица 5.2 – Результаты прогноза спектра возможных анксиолитических механизмов действия соединения ДАБ-21 в системе PASS

Механизм действия	Система	Pa	Pi
α -адреноблокатор	адренергическая	0.579	0.005
Октапаиновый ингибитор	адренергическая	0,459	0,046
5-НТ _{1А} серотониновый блокатор	серотонинергическая	0,478	0,005
5-НТ _{1А} серотониновый агонист	серотонинергическая	0,325	0,008
5-НТ ₁ серотониновый блокатор	серотонинергическая	0,436	0,007
Стимуляция захвата серотонина	серотонинергическая	0,362	0,160
$\alpha_4\beta_2$ никотиновый блокатор	холинергическая	0,552	0,061
$\alpha_4\beta_2$ никотиновый агонист	холинергическая	0,372	0,181
$\alpha_4\beta_4$ никотиновый агонист	холинергическая	0,372	0,181
Ингибитор ацетилхолинэстеразы	холинергическая	0,325	0,081
блокатор HERG 1 канала	калиевые каналы	0,456	0,033
Ингибитор интерлейкина 2	интерлейкины	0,355	0,004
Активатор кальциевых каналов	кальциевые каналы	0,409	0,163

Примечание: Pa (вероятность «быть активным») оценивает вероятность того, что изучаемое соединение принадлежит к подклассу активных соединений (напоминает структуры молекул, наиболее типичных в подмножестве «активных веществ» при обучении PASS); Pi (вероятность «быть неактивным») оценивает вероятность того, что изучаемое соединение принадлежит к подклассу неактивных соединений (напоминает структуры молекул, наиболее типичных в подмножестве «неактивных» при обучении PASS).

Полученные в отношении соединения ДАБ-21 данные с применением системы PASS online лишь частично соотносятся с результатами, полученными методом максимального сходства к эталонам. Преимущественно показаны монаминергические механизмы действия через α -адренергические и 5-НТ₁-серотонинергические рецепторы. Однако результат имеет некоторые противоречия, в частности, показан как возможный агонистический, так и антагонистический пути реализации этого потенциала, что предварительно

согласуется с заявленными ограничениями самой модели PASS-анализа. Более интересно появление прогностической регуляции механизмов захвата серотонина, что соотносится с антидепрессивным действием соединения ДАБ-21. Второй по значимости прогнозной оценкой стала холинергическая система, которая не была показана при оценке спектра активности базовой структуры 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола. При этом выделен именно никотинчувствительный тип холинорецепторов. Противотревожные эффекты лигандов этих рецепторов известны достаточно давно [Brioni et al., 1993]. Способность связываться с α_4 , β_2 и β_4 субъединицами этих рецепторов позволяет формировать как анксиогенное, так и анксиолитическое поведение животных [McGranahan et al., 2011; Anderson et al., 2015]. Влияние на ферментативную регуляцию ацетилхолина также не случайно, применение ингибиторов ацетилхолинэстеразы (донепезила, галантамина, ривастигмина, нейромидина) уменьшает проявление тревоги, расторможенного поведения, возбуждения, депрессии, редуцирует бредовые идеи, смягчает отклоняющуюся от нормы двигательную деятельность [Живолупов и др., 2014]. Интерлейкин 2 способен моделировать депрессивное и частично тревожное поведение, что опосредуется серотонинергическими эффектами в головном мозге [Karrenbauer et al., 2011]. Влияние на ионные каналы также несколько отличается в сравнении с результатами теста максимального сходства к эталонам. В PASS-анализе для соединения ДАБ-21 эффекты спрогнозированы в отношении калиевых и кальциевых каналов. Тем не менее, стоит отметить, что значительное количество спрогнозированных эффектов предполагают реализацию противотревожного действия соединения ДАБ-21 через моноаминергическое звено, с преимущественным влиянием серотонинового компонента.

При анализе результатов прогноза спектра возможных анксиолитических механизмов действия соединения ДАБ-19 в системе PASS были получены результаты о 113 потенциальных мишенях для действия вещества. По аналогии с соединением ДАБ-21, выделены мишени, преимущественно ассоциированные с противотревожным действием (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Результаты прогноза спектра возможных анксиолитических механизмов действия соединения ДАБ-19 в системе PASS

Механизм действия	Система	Pa	Pi
агонист интерлейкина	интерлейкины	0,433	0,004
$\alpha_6\beta_3\beta_4\alpha_5$ никотиновый антагонист	холинергическая	0,479	0,134
октопаминовый ингибитор	адренергическая	0,413	0,077
$\alpha_2\beta_2$ никотиновый антагонист	холинергическая	0,432	0,104
блокатор HERG 1 канала	калиевые каналы	0,377	0,052
стимуляция захвата серотонина	серотонинергическая	0,371	0,148
ингибитор ацетилхолинэстеразы	холинергическая	0,31	0,089
стимуляция высвобождения серотонина	серотонинергическая	0,314	0,105
блокада нейротрансмиссии	-	0,337	0,146
активатор кальциевых каналов	кальциевые каналы	0,381	0,195
антагонист нейропептида Y_4	нейропептиды	0,321	0,137
GRKs ингибиторы	GRK-киназная	0,301	0,128
BARK ингибиторы	GRK-киназная	0,301	0,128

Примечание: Pa (вероятность «быть активным») оценивает вероятность того, что изучаемое соединение принадлежит к подклассу активных соединений (напоминает структуры молекул, наиболее типичных в подмножестве «активных веществ» при обучении PASS); Pi (вероятность «быть неактивным») оценивает вероятность того, что изучаемое соединение принадлежит к подклассу неактивных соединений (напоминает структуры молекул, наиболее типичных в подмножестве «неактивных» при обучении PASS).

Полученные данные прогнозной оценки спектра противотревожных механизмов действия соединения ДАБ-19, полученные в программе PASS online, достаточно сильно расходятся с результатами, полученными для базовой структуры 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола методом максимального сходства к эталонам. Из 13 выделенных мишеней лишь 3 относятся к ранее предположенному моноаминовому механизму регуляции. Они являются весьма специфическими. Так адренергический механизм, возможно, может быть реализован через стимуляцию октопамина [Hermanns et al., 2022], который

является эндогенным амином связанным с адренергической системой [Nakagawa et al., 2022] и влияющим на сигналинг CREB [Suo et al., 2013]. Регуляция серотонинового звена предполагала вероятные влияния на высвобождение и захват самого серотонина, при этом действие представляется разнонаправленным, что несколько противоречит возможной логике, но позволяет предполагать, что соединение имеет потенциал в регуляции количества нейромедиатора в синапсе. Такие эффекты зачастую характерны для веществ с продепрессивным или антидепрессивным действиями [Багай и др., 2008]. Однако эти эффекты для соединения ДАБ-19 выявлены не были, что ставит под сомнение вероятность такого действия. Отмечается 3 мишени, связанные с регуляцией никотиновых холинергических рецепторов. В частности, предполагается антагонистическое влияние на $\alpha_6\beta_3\beta_4\alpha_5$ и $\alpha_2\beta_2$ холинорецепторы. Существуют современные разработки в этом направлении в частности N_{C1-6} алкилы – неконкурентные антагонисты никотиновых рецепторов, разработанные для коррекции никотиновой зависимости и большого депрессивного расстройства (Патент RU2582339C2). Отмечается возможные влияния на нейрональную передачу и регуляцию ионных каналов. Для вещества предполагаются как хорошо известные нейропептидные механизмы, так и менее очевидные эффекты в отношении интерлейкинов. Среди всех мишеней интересными являются также возможные влияния на протеинкиназные механизмы, которые являются одними из возможных механизмов регуляции вторичных механизмов пострецепторной передачи информации внутри клетки [Evron et al., 2012; Crudden et al., 2021].

5.1.2 Заключение

Таким образом, был проведен прогноз возможных эффектов перспективного химического класса 11*H*-[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола методом максимального сходства к эталонам с применением ПО Microcosm BioS, а также оценены возможные механизмы анксиолитического действия двух наиболее активных веществ с доказанным противотревожным действием.

По результатам исследования наиболее вероятными механизмами реализации действия изучаемых соединений ДАБ-19 и ДАБ-21, являющихся

производными диазепино[1,2-а]бензимидазола, являются серотонинергические, адренергические и холинергические.

Указанные механизмы предполагается проверить с использованием методов *in vitro* и *in vivo*. Учитывая особенности химического строения базовой структуры соединений – диазепина, а также результатов анксиолитического действия соединений, важным представляется исследование также и ГАМК-ергического действия соединений. Обращает на себя внимание и глутаматергический потенциал соединений, и, хотя такой прогноз отсутствует в результатах PASS-анализа, указанный механизм является наиболее перспективным для изучаемого химического скаффолда, как и присутствие возможных эффектов в отношении ионных каналов. Дополнительно планируется оценить возможные дофаминергические эффекты соединений.

5.2 Изучение анксиолитических механизмов действия соединения ДАБ-19

Для уточнения представлений о механизмах действия соединения ДАБ-19 был проведен расширенный фармакологический анализ его эффектов *in vivo*, оценка влияния на различные рецепторные системы *in vitro*, изучение наличия у соединения ДАБ-19 5-HT_{2A}-антагонистического действия *in vitro* на трансфицированной линии клеток, а также наличия антагонистического действия с NMDA- и AMPA-глутаматергическими рецепторами гиппокампа крыс.

5.2.1 Взаимодействие соединения с лигандами нейромедиаторных систем *in vivo*

Для фармакологического анализа и подтверждения прогноза механизмов действия соединения ДАБ-19 изучено его взаимодействие с ГАМК-ергической (тесты взаимодействия с флумазенилом и пикротоксином), серотонинергической (5-гидрокситриптофановый гиперкинез), холинергической (тесты взаимодействия с ареколином и никотином), дофаминергической (взаимодействие с апоморфином и галоперидолом), адренергической (тесты резерпиновой и клофелиновой гипотермий) системами, а также была изучена MAO-ингибирующая активность соединения ДАБ-19 в тесте взаимодействия с L-ДОФА.

5.2.1.1 Оценка влияния флумазенила на эффекты соединения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

В ходе изучения взаимодействия соединения ДАБ-19 с антагонистом бензодиазепиновых рецепторов флумазенилом *in vivo* в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» было отмечено, что время, проведенное мышами в открытых рукавах установки, в контрольной группе составило $27,0 \pm 6,05$ с, а в группе препарата сравнения диазепама (1 мг/кг) – $69,2 \pm 7,20$ с. Под действием флумазенила в дозе 1 мг/кг величина эффекта диазепама снижалась в 2,8 раза и составляла $25,8 \pm 2,76$ с. В группе экспериментального соединения ДАБ-19 параметр составил $120,8 \pm 10,35$ с, а под действием флумазенила упал в 4,6 раза до $26,5 \pm 3,42$ с (рисунок 5.1).

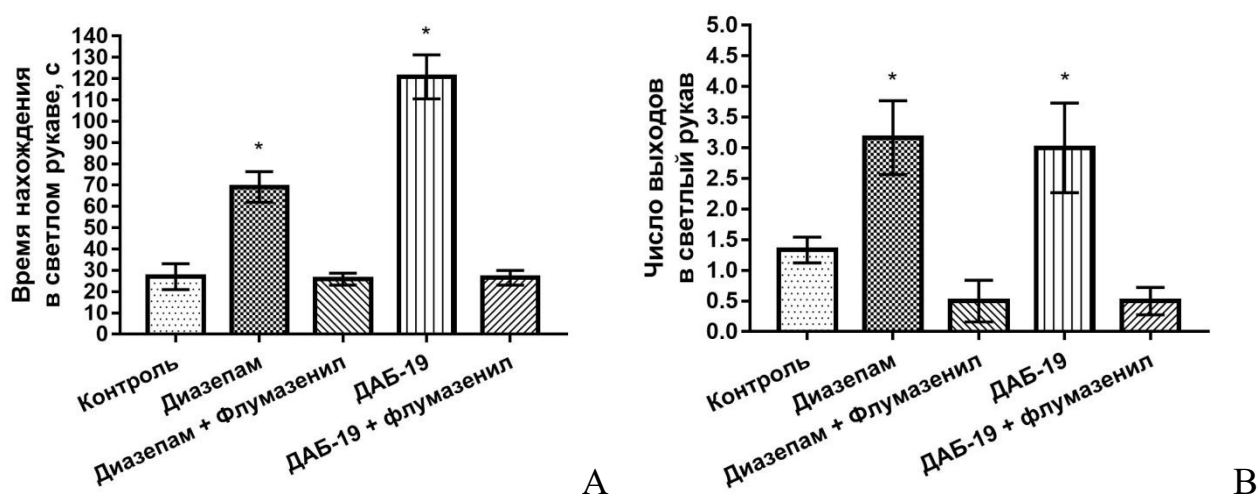


Рисунок 5.1 - Влияние флумазенила (1 мг/кг, в/б) на проявление анксиолитической активности соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве; В – Общее число выходов в светлый рукав. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Число выходов в светлый рукав установки «Приподнятый крестообразный лабиринт» в группе контроля на уровне $1,3 \pm 0,21$, а в группе диазепама в 2,4 раза выше – $3,1 \pm 0,60$. Флумазенил блокировал эффекты диазепама, снижая число выходов в светлый рукав более чем в 6 раз – до $0,5 \pm 0,34$. Для соединения ДАБ-19 отмечены аналогичные закономерности, как и для диазепама (рисунок 5.1).

Результаты, полученные в этом тесте, позволяют сделать предположение о возможном бензодиазепиновом действии вещества, посредством аллостерической модуляции бензодиазепинового сайта ГАМК-рецептора. Данные согласуются с предварительной прогнозной оценкой, полученной методом максимального сходства к эталонам. В частности, отмечается, что процесс аллостерического регулирования хлорных ионных каналов опосредуется через связь с двумя субъединицами α_1 и γ_2 [Johnston et al., 1996]. Указанные субъединицы должны быть локализованы рядом друг с другом, и представляют достаточно распространённые комбинации α_i - и $\beta_i\gamma_2$ (где $i=1-3$) [Rudolph et al., 2004]. $\alpha_1\beta\gamma_2$ комбинация субъединиц - самая распространённая и составляет около 40% всех рецепторов в синапсах нервной системы [Mortensen et al., 2012], как и, в частности, полученный по результатам прогноза тип ГАМК-рецептора - $GABA\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$.

5.2.1.2 Влияние соединения на эффекты пикротоксина

Пикротоксин является судорожным агентом и неконкурентным антагонистом ГАМК_A рецепторов [Yang et al., 2017; Rho et al., 1996; Wong et al., 2007]. По показателям латентного времени возникновения судорожного приступа и тремора у исследуемых животных не было отмечено существенных различий между группой, получавшей только пикротоксин, и группой животных, получавших пикротоксин и соединение ДАБ-19. Число судорожных приступов в обеих экспериментальных группах также существенно не отличалось. Полученные данные могут свидетельствовать об отсутствии непосредственного ГАМК-ергического влияния соединения под шифром ДАБ-19 (рисунок 5.2).

Пикротоксин действует как блокатор каналов с сайтом связывания на внутриклеточном конце спирали ГАМК_A-рецептора, при этом для связывания необходима β -субъединица, а наибольшую чувствительность проявляют комбинации, содержащие β_3 -субъединицу [Carpenter et al., 2013]. При прогнозе возможных анксиолитических механизмов действия производных 11H-[1,3]дiazepino[1,2-a]бензимидазола 4 из предсказанных эффектов опосредуемых

через ГАМК-ергическое звено содержали указанную субъединицу, хотя в PASS-анализе данной активности показано не было.

5.2.1.3 Действие соединения на выраженность эффектов

5-гидрокситриптофана

В тесте взаимодействия соединения ДАБ-19 с 5-гидрокситриптофаном было установлено, что уже на 10-й минуте теста наблюдались статистически значимые различия между параметрами исследуемых групп ($p < 0,05$). На 20-й минуте зарегистрировано усиление эффектов встряхивания головой у мышей в группе, получавшей 5-ГТФ, и отсутствие значимых различий с группой животных, получавших только соединение ДАБ-19. В дальнейшем отмечалось существенное увеличение указанного параметра в группе соединения ДАБ-19 по сравнению с контрольной группой животных, получавших только 5-гидрокситриптофан (рисунок 5.3). Согласно литературным данным, эффекты 5-гидрокситриптофана опосредуются через 2 тип серотониновых рецепторов в тесте встряхивания головой у крыс [Yar et al., 1983]. Учитывая полученный результат, можно сделать вывод о вероятном серотонинергическом механизме действия для экспериментального соединения ДАБ-19. Однако стоит учитывать, что эффекты соединения практически не имеют выраженного влияния на коррекцию депрессивноподобного поведения в тесте «Принудительного плавания по Porsolt», хотя эффекты в тесте «Подвешивания за хвост» при однодневном введении вещества отмечались. Тем не менее, способность модулировать эффекты 5-гидрокситриптофана подтверждает выраженный потенциал соединения ДАБ-19 как вещества с анксиолитической активностью. Это обусловлено вовлеченностью 5-гидрокситриптофана, как и серотонина, в процессы регуляции паники и тревоги [Maffei, 2020; Kahn et al., 1985].

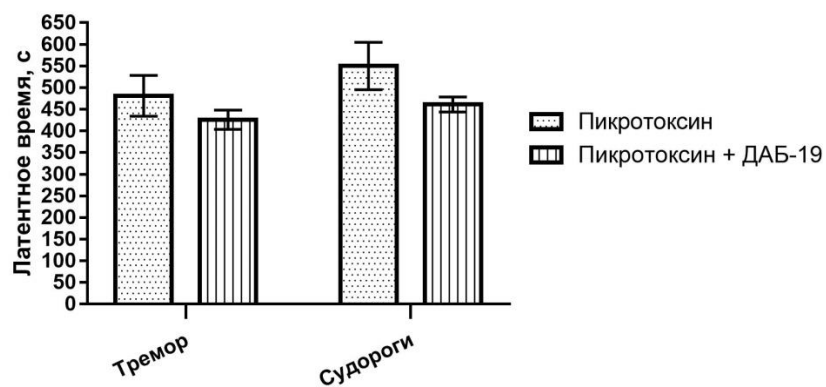


Рисунок 5.2 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на латентное время возникновения тремора и судорог, количество судорожных приступов и летальность в тесте с пикротоксином (2,5 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

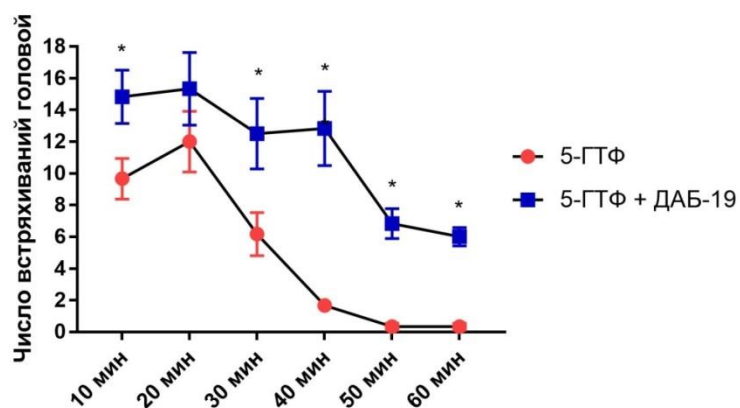


Рисунок 5.3 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана (5-ГТФ, 300 мг/кг, в/б), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.2.1.4 Влияние соединения на выраженность ареколинового тремора

В результате изучения взаимодействия М-холиномиметика ареколина в дозе 15 мг/кг с экспериментальным соединением ДАБ-19 было отмечено, что латентное время возникновения судорог незначительно отличалось в опытных группах. Длительность тремора, вызванного введением ареколина, в группе контроля, получавшей ареколин, составила $481,8 \pm 34,67$ с, а в группе животных, получавших соединение ДАБ-19, – $437,7 \pm 46,82$ с. Таким образом, по длительности тремора также не было зафиксировано значительных различий

между группами (рисунок 5.4). Данные частично согласуются с результатами предварительной прогнозной оценки. Тем не менее, отсутствие эффектов по результатам тестирования указывает на отсутствие способности ингибировать ацетилхолинэстеразу, показанную в PASS-прогнозе.

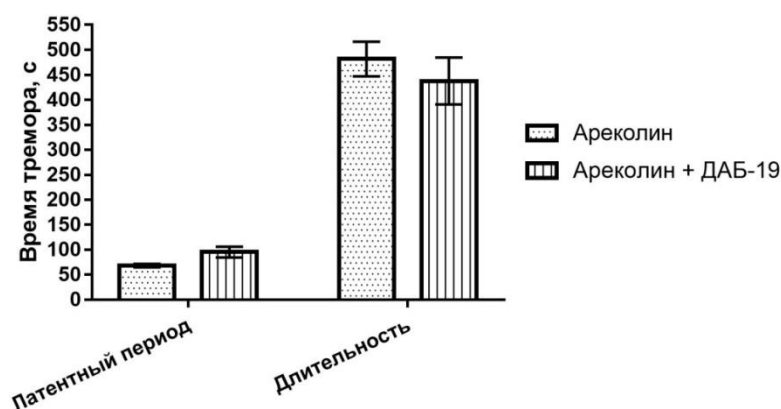


Рисунок 5.4 – Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на выраженность тремора, вызванного введением ареколина (15 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.2.1.5 Действие соединения на эффекты L-ДОФА

Известно свойство L-ДОФА в малых дозах (100 мг/кг) вызывать стереотипию при введении совместно с неселективными ингибиторами моноаминоксидазы у крыс и мышей, индуцируя стереотипную гиперактивность в ответ на леводопу (L-ДОФА) в результате повышенного синтеза и высвобождения дофамина и серотонина соответственно [Sagi et al., 2005; Krishna et al., 2014]. При введении соединения ДАБ-19 на фоне введения L-ДОФА в дозе 100 мг/кг значимых отличий от группы контроля, получавшей L-ДОФА в малой дозе, обнаружено не было. Для соединения ДАБ-19 не отмечено влияния на моноаминоксидазу по результатам проведенного эксперимента (рисунок 5.5). Обращает на себя внимание, что в тесте не отображается эффектов, сопряженных с увеличением количества моноаминов, что, скорее всего, свидетельствует об отсутствии стимуляции высвобождения серотонина (таблица 5.3).

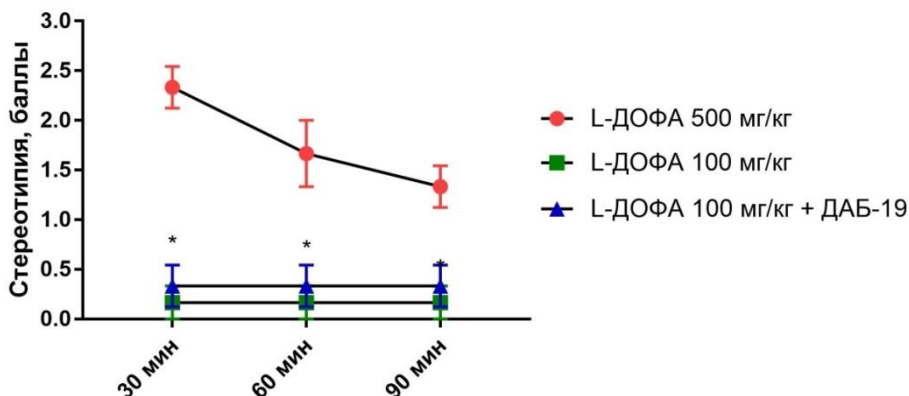


Рисунок 5.5 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на эффекты L-ДОФА (100 и 500 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.2.1.6 Влияние соединения на выраженность эффектов никотина

Участие никотиновых холинорецепторов в регуляции тревожного поведения широко известно [Brioni et al., 1993]. В главе 5.1 было показано возможное развитие агонистической, либо антагонистической активности. В связи с этим, было изучено влияние соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг на Н-холинергическую систему путем взаимодействия с агонистом указанных рецепторов никотином в дозах 2 и 4 мг/кг. Во всех исследуемых группах значимых отличий не было зарегистрировано, что позволяет предполагать отсутствие Н-холинергического компонента действия соединения ДАБ-19 (таблица 5.4). Полученные результаты, скорее всего, сопряжены с ограничениями и особенностями программы PASS, так как при использовании метода максимального сходства к эталонам в ПО Microcosm BioS спрогнозированные эффекты отсутствовали.

Таблица 5.4 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на выраженность эффектов низкой пороговой дозы (2 мг/кг, в/б) и высокой дозы (4 мг/кг, в/б) никотина у мышей, $M \pm m$

	Контроль 1 дис.вода + никотин 2 мг/кг	Контроль 2 дис.вода + никотин 4 мг/кг	ДАБ-19 + никотин 2 мг/кг	ДАБ-19 + никотин 4 мг/кг
Количество животных, у которых возник тремор (%)	100	100	100	100
Количество животных, у которых возникли судороги (%)	0	100 [#]	0	100 [#]

Примечания: пероральное введение ДАБ-19 за 30 мин до никотина;
* – отличия по отношению к контрольной группе 1 статистически значимы ($p < 0,05$, критерий согласия Пирсона).

5.2.1.7 Оценка действия соединения на выраженность стереотипного поведения крыс, вызванного апоморфином

По результатам изучения интеракции соединения ДАБ-19 с пресинаптическим дофаминовым агонистом апоморфином не было отмечено существенных различий между экспериментальными группами, получавшими апоморфин внутрибрюшинно в дозе 0,1 мг/кг, а также апоморфин внутрибрюшинно и ДАБ-19 внутривентрикулярно в дозе 2,9 мг/кг (рисунок 5.6). Эффекты апоморфина достаточно многообразны [Borkar et al., 2017; Carbone et al., 2019]. Преимущественно он влияет на дофаминовые рецепторы и определяется как неэрголиновый агонист D_2 , D_3 и D_5 дофаминовых рецепторов, а благодаря своей катехиновой части апоморфин действует как мощный агонист дофаминовых рецепторов с широким спектром действия на все D_1 - и D_2 -подобные рецепторы (D_1 , D_{2S} , D_{2L} , D_3 , D_4 , D_5) [Auffret et al., 2018]. Кроме того, апоморфин обладает свойствами антагониста серотонинергических 5-НТ- $2A$, 5-НТ- $2B$ и 5-НТ- $2C$ и адренергических α_{2A} , α_{2B} и α_{2C} рецепторов, и свойствами агониста серотонинергических 5-НТ- $1A$ рецепторов [Jenner et al., 2018]. Учитывая особенности эффектов апоморфина, в настоящее время он используется не только в клинической практике, но и как вещество для поиска антиэметической и

нейролептической активностей [Auffret et al., 2018]. Полученные результаты позволяют сделать предположение об отсутствии антипсихотического действия соединения ДАБ-19.

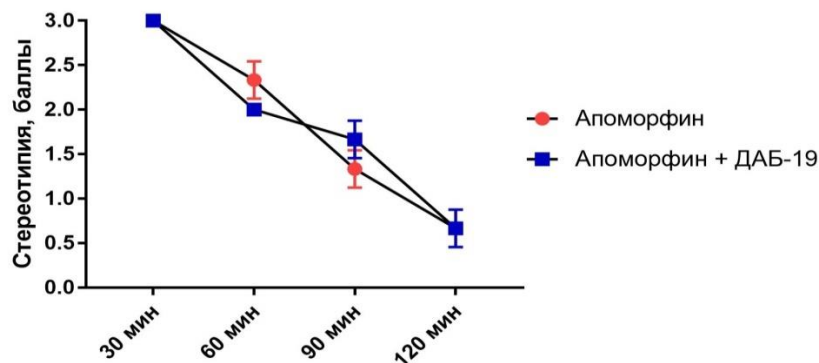


Рисунок 5.6 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на стереотипию, вызванную апоморфином (0,1 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.2.1.8 Изменение каталептогенного эффекта галоперидола при введении соединения

Проведено исследование выраженности каталепсии, вызванной введением галоперидола внутрибрюшинно в дозе 3 мг/кг при введении соединения ДАБ-19 внутрижелудочно в дозе 2,9 мг/кг. Галоперидол является блокатором постсинаптических D_2 -дофаминовых рецепторов в мезолимбической системе мозга [Zaremba et al., 2023]. Он также обладает норадренергическим, холинергическим и гистаминергическим блокирующим действиями [Gao et al., 2023]. На протяжении всего периода наблюдения – 2 ч – наблюдалось снижение уровня каталепсии относительно группы контроля, получавшей только галоперидол. Полученные результаты, в большей степени, свидетельствуют о дофамин-миметическом действии соединения ДАБ-19, однако отсутствие эффектов в тесте стереотипного поведения крыс, вызванного апоморфином, не позволяют сделать однозначный вывод (рисунок 5.7).

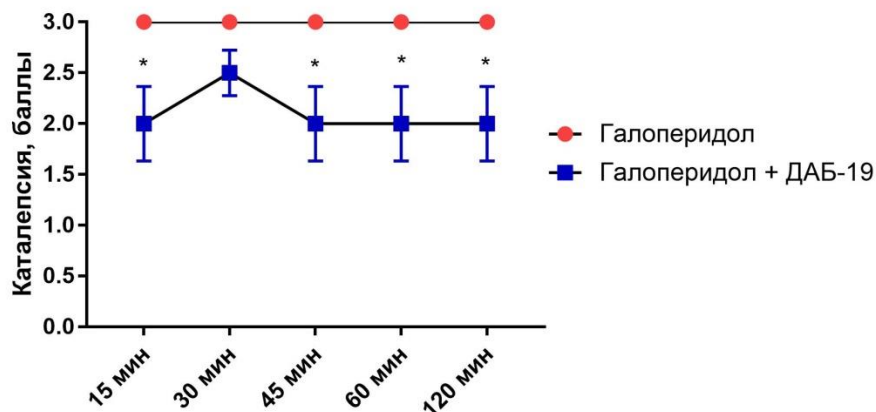


Рисунок 5.7 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) на каталепсию, вызванную галоперидолом (3 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.2.1.9 Изменение гипотермического эффекта клофелина при введении соединения

Адренергические свойства соединения ДАБ-19 были изучены с применением тестов клофелиновой и резерпиновой гипотермий [Воронина и др, 2012; Миронов, 2013; Андреева и др, 2005]. В группе интактного контроля средняя ректальная температура мышей составила $37,2 \pm 0,20^\circ\text{C}$. Под действием клофелина в дозе 0,1 мг/кг через 30 минут тестирования температура падала до $35,6 \pm 0,20^\circ\text{C}$ и оставалась на том же уровне до конца эксперимента. Под действием соединения ДАБ-19 на 30-й минуте теста уровень эффекта соответствовал таковому для клофелина, после чего с 60-й минуты увеличивался до $36,2 \pm 0,26^\circ\text{C}$ и выходил на плато до 120-й минуты тестирования. Клофелин действует путем стимуляции пресинаптических α_2 -адренорецепторов, тем самым уменьшая высвобождение норадреналина как из центральных, так и из периферических симпатических нервных окончаний [Jamadarkhana et al., 2010]. Таким образом, для соединения ДАБ-19 в эффективной дозе отмечен слабый α_2 -блокирующий эффект в условиях взаимодействия с клофелином (рисунок 5.8). При прогнозе анксиолитической активности соединения ДАБ-19 была предсказана возможная адренергическая активность вещества, реализующаяся через октопаминовый механизм, однако при прогнозе возможных эффектов базовой структуры показан

вероятностный α -адренергический эффект. Указанный эффект, возможно, усиливается с повышением дозы соединения.

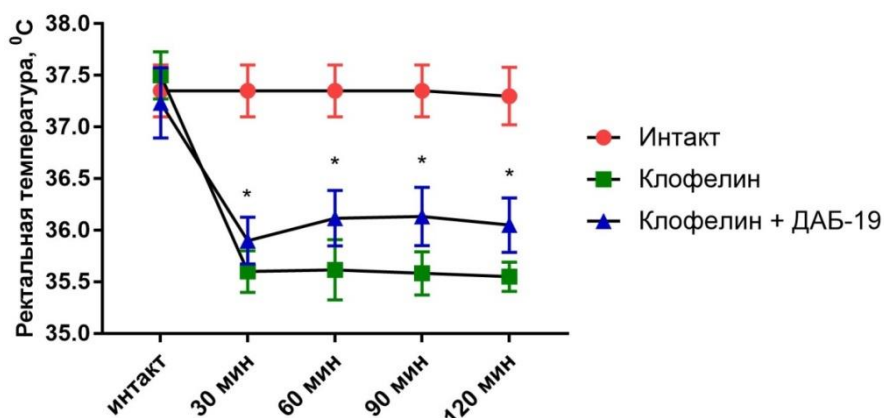


Рисунок 5.8 - Изменение гипотермического эффекта клофелина (0,1 мг/кг, в/б) при введении соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.2.1.10 Действие соединения на эффекты резерпина

В условиях взаимодействия соединения ДАБ-19 с симпатолитиком резерпином в дозе 2,5 мг/кг не было отмечено значимых различий между группами животных, получавших резерпин и соединение ДАБ-19. В настоящем исследовании резерпин использовался как симпатолитик, но этот антигипертензивный препарат способен также ингибировать захват норадреналина, связываться с везикулами хранения катехоламинов (дофамина и норадреналина), а также необратимо блокирует VMAT₂ (везикулярный транспортер моноаминов-2), участвующих в передаче сигнала адренергической системы [Leão et al., 2017; Shamon et al., 2016]. Указанные эффекты также прогнозировались для базовой структуры diazepinobenzimidazole. Полученные данные позволяют предполагать отсутствие влияния соединения ДАБ-19 на симпатолитические эффекты резерпина в условиях проведенного тестирования (рисунок 5.9).

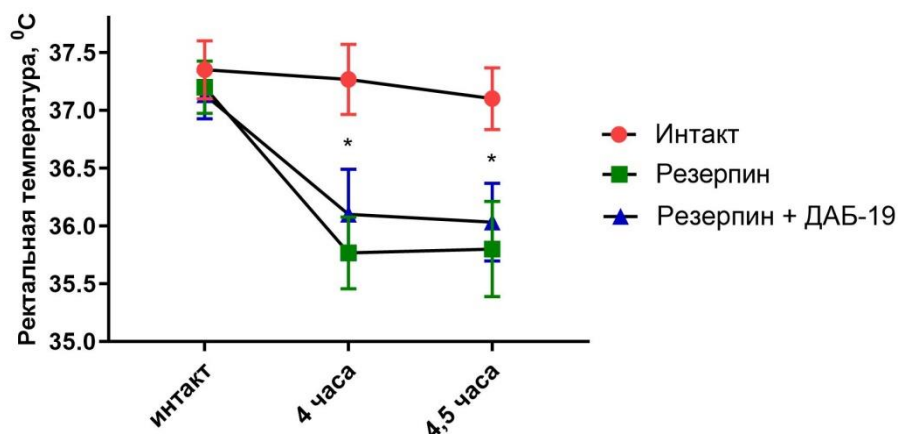


Рисунок 5.9 – Изменение эффектов резерпина (2,5 мг/кг, в/б) при введении соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.2.1.11 Оценка содержания моноаминов и их метаболитов в головном мозге мышей

Было изучено влияние соединения ДАБ-19 в дозе 2,9 мг/кг на содержание основных катехоламинов в их метаболитов в головном мозге мышей линии С57В1/6 на модели хронического непредсказуемого легкого стресса (ХНЛС)⁶. Концентрация норадреналина в группе интактного контроля составила в среднем $123,3 \pm 6,33$ нг/мл. Под действием ХНЛС показатель упал на 42%, и на этом же уровне зарегистрированы показатели для групп amitriptilina (10 мг/кг), fluoxetine (10 мг/кг), diazepam (1 мг/кг) и afobazole (5 мг/кг). Значительное повышение концентрации норадреналина отмечено в группе мышей, получавших имипрамин: по сравнению с группой негативного контроля показатель увеличился на 31%. Статистически значимое снижение содержания указанного катехоламина отмечено в группе соединения ДАБ-19 – на 60% по сравнению с группой ХНЛС.

Уровень серотонина в головном мозге мышей составил в группе интактного контроля $550,2 \pm 11,71$ нг/мл, в группе негативного контроля (ХНЛС) – $321,9 \pm 2,32$

⁶ Выражаем искреннюю благодарность д.б.н., профессору Л.А. Смирновой, к.фарм.н., доценту А.Ф. Рябуха, н.с. О.К. Абрамову за помощь в проведении исследований

нг/мл, что в среднем ниже на 43%. На уровне ХНЛС находятся показатели групп имиπραмина, диазепама, афобазола и соединения ДАБ-19. Выраженное повышение исследуемого показателя зарегистрировано в группах amitriptилина и флуоксетина, что, в целом, согласуется с их серотонинергическим действием. Можно отметить, что, хотя amitriptилин и имипрамин характеризуются схожим механизмом действия, в равной степени ингибирующим обратный захват норадреналина и серотонина в головном мозге, в ходе настоящего исследования более выраженное серотонинергическое действие показано для amitriptилина, а норадренергическое – для имиπραмина. При рассмотрении концентраций серотонина в совокупности с его метаболитом – 5-оксииндолуксеной кислотой (5-ОИУК) можно отметить повышение 5-ОИУК в группах amitriptилина, имиπραмина и соединения ДАБ-19 на 19% по сравнению с концентрацией 5-ОИУК группы ХНЛС. Таким образом, имипрамин и соединение ДАБ-19 способствуют более интенсивному метаболизму серотонина до 5-ОИУК, а amitriptилин повышает концентрацию не только 5-ОИУК, но и самого серотонина, что связано с его выраженным серотонинергическим действием в условиях проведенного тестирования. Коэффициент 5-ОИУК/серотонин для группы amitriptилина составил 0,13, флуоксетина – 0,11, имипрамина – 0,17, диазепама – 0,13, афобазола – 0,14, соединения ДАБ-19 – 0,17.

Содержание дофамина в группе интактного контроля составило $1465,0 \pm 51,33$ нг/мл, в группе ХНЛС – снижено на 20%. Эффект на уровне ХНЛС показан для групп amitriptилина, имиπραмина, диазепама и афобазола. Под действием флуоксетина параметр был снижен на треть относительно группы ХНЛС, а при введении соединения ДАБ-19 – не отличался значимо от группы интактного контроля. Содержание ДОФУК в биологических пробах составило $725,7 \pm 26,45$ нг/мл в группе ХНЛС, на том же уровне отмечен эффект имиπραмина и афобазола. Под действием amitriptилина, флуоксетина и диазепама концентрация ДОФУК соответствовала показателям интактной группы, а при введении соединения ДАБ-19 была повышена на 26% относительно интактного контроля. Коэффициент ДОФУК/дофамин для группы amitriptилина составил

для амитриптилина 0,89, флуоксетина – 1,09, имипрамина – 0,57, диазепама – 0,72, афобазола – 0,59, соединения ДАБ-19 – 1,13.

Сводные данные о полученных результатах представлены на рисунке 5.10.

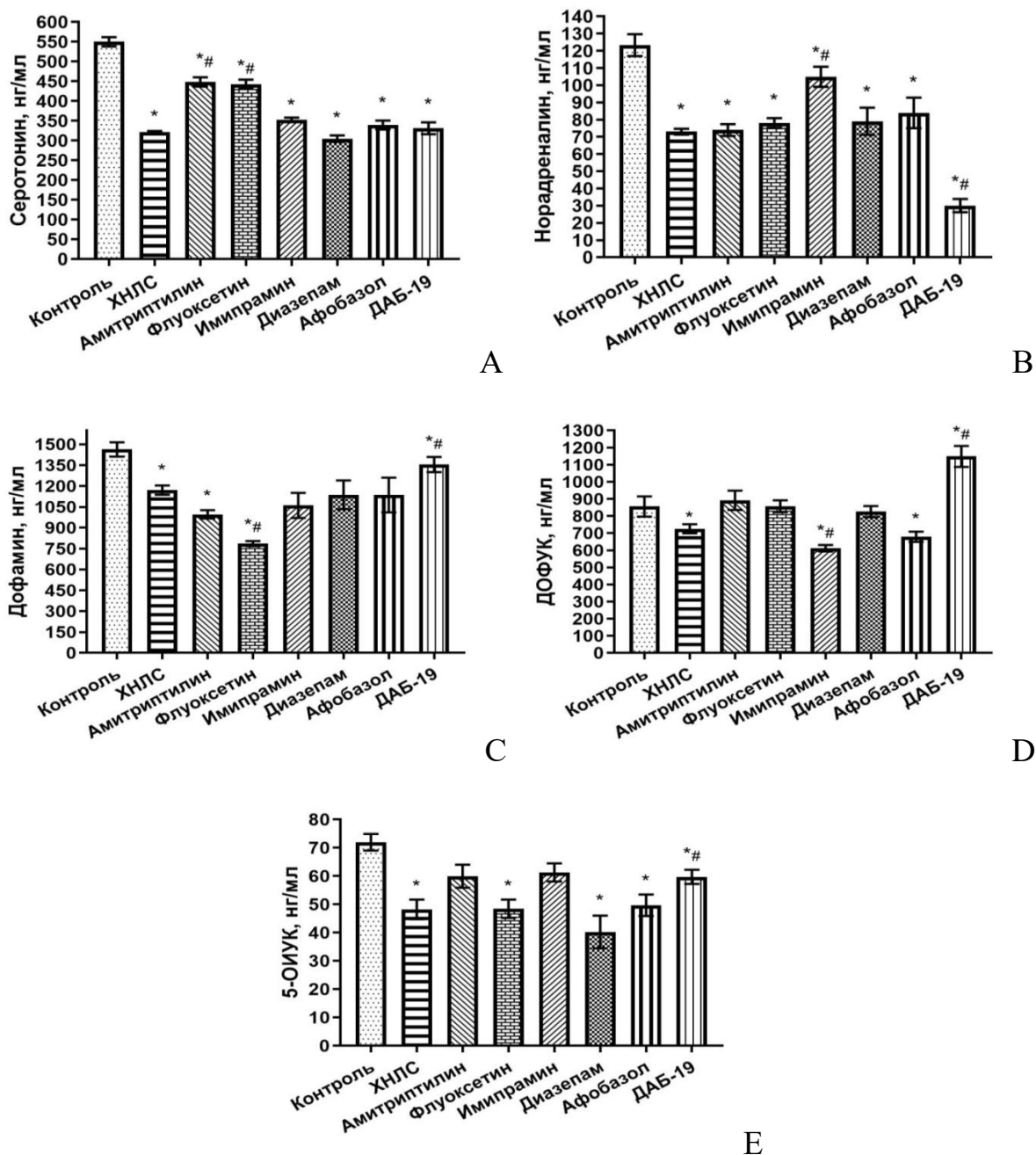


Рисунок 5.10 – Количественные показатели содержания моноаминов и их метаболитов на целом мозге мышей с использованием ВЭЖХ на модели непредсказуемого легкого стресса (ХНЛС) при 14 дневном введении амитриптилина (10 мг/кг, в/ж), флуоксетина (10 мг/кг, в/ж), имипрамина (8 мг/кг, в/ж), диазепама (1 мг/кг, в/ж), афобазола (5 мг/кг, в/ж) и соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), $M \pm m$. А - Серотонин; В – Норадреналин; С – Дофамин; D – ДОФУК (3,4-диоксифенилуксусная кислота); Е – 5-ОИУК (5-оксииндолуксусная кислота).

Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Таким образом, полученные результаты указывают на возможное влияние соединения ДАБ-19 на метаболические пути трансформации дофамина и норадреналина, это связано с высоким уровнем дофамина, который в условиях хронического стресса восстанавливается до уровня значений интактного контроля, в то время как концентрация норадреналина снижается в 3 раза. Такой эффект, скорее всего, связан с одним из путей трансформации дофамина в норадреналин через дофамин- β -гидроксилазу [Graves et al., 2020]. Препараты с таким действием существуют, одним из таких средств является производное 2*H*-имидазола – непикастат. В настоящее время он используется как средство для лечения кокаиновой зависимости, но ранее для него были обнаружена способность корректировать посттравматическое стрессовое состояние [Stanley et al., 1997; Hegde et al., 1998; De La Garza et al., 2015]. Еще одним веществом является дисульфирам – препарат второй линии для лечения алкогольной зависимости [Stokes et al., 2018]. Указанный механизм, вероятно, депримируется, что приводит к преимущественному образованию ДОФУК с помощью ферментов моноаминоксидазы В и альдегиддегидрогеназы [Robbins et al., 2003; Volkow et al., 2009].

5.2.1.12 Заключение

На втором этапе изучения механизмов анксиолитического действия соединения ДАБ-19 исследована способность экспериментального вещества взаимодействовать с лигандами нейромедиаторных систем, которые были выбраны по результатам прогнозной оценки как базовой структуры соединений, так и в системе PASS для соединения-лидера.

Показательным является отсутствие прямого влияния на регуляцию хлорных ионных каналов, а возможные эффекты вероятно сопряжены с бензодиазепиновыми участками связывания в ГАМК $\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$ рецепторах. Спрогнозированные в PASS online холинергическое влияние не подтвердилось, как и практически отсутствующие адренергические эффекты соединения ДАБ-19.

Для последнего стоит отметить слабое действие на гипотермию, вызванную клофелином, которая опосредуется через α -адренорецепторы. Полученные результаты были несколько выше, чем в группе с клофелином, но достоверно уступали результатам интактного контроля. Вывод о серотониновом действии вещества связан с выраженным потенцированием эффектов 5-гидрокситриптофана, что согласуется с предварительными прогнозными данными, а также повышении концентрации метаболитов серотонина в головном мозге мышей. Дофаминергическое влияние было выявлено в тесте регистрации каталепсии, вызванной галоперидолом, что, вероятно, связано с дофамин-миметическим действием соединения ДАБ-19, либо, возможно, указанный эффект опосредован ингибирующим действием вещества на синтез норадреналина из дофамина.

5.2.2 Влияние на различные рецепторные системы *in vitro*

5.2.2.1 Оценка 5-НТ_{2A}- β -аррестинового сигнального действия соединения

По результатам прогноза было показано, что производные 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола могут влиять на серотониновые рецепторы. Затем было показано влияние соединения ДАБ-19 на гиперкинез, вызванный 5-гидрокситриптофаном. Учитывая, что указанное действие обосновывается, прежде всего, влиянием на 5-НТ₂-серотониновые рецепторы [Yap et al., 1983], а также многообразие возможных способов модуляции сигнала [Bohn et al., 2010], интересным представляется способность экспериментального вещества влиять на сигнальный путь 5-НТ₂-рецептора, опосредованный β -аррестиновым внутриклеточным каскадом.

По результатам исследования, в исследуемой концентрации 0,1 мкМ отношение интенсивности FRET при двух длинах волн для соединения ДАБ-19 не превышает данный показатель препарата сравнения ципрогептадина и соответствует показателям контрольных значений, что свидетельствует об отсутствии 5-НТ_{2A}-опосредованного действия соединения ДАБ-19, реализованного β -аррестиновым сигнальным путем (таблица 5.5).

Таблица 5.5 - Изучение наличия у соединения ДАБ-19 (0,1 мкМ) 5-HT_{2A}-антагонистического действия *in vitro* на модели Tango™ HTR_{2A}-bla U2OS DA

	Отношение интенсивности FRET
Контроль	2,4
Ципрогептадин	1,67±0,183
ДАБ-19	2,45±0,191

5.2.2.2 Глутаматергическое действие соединения

По результатам предварительного прогноза возможных анксиолитических механизмов действия производных 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола одним из наиболее вероятных эффектов было NMDA-глутаматергическое действие, также в рамках PASS-прогноза были получены результаты возможного влияния на ионные каналы, в частности, кальциевые. На основании этого интересным представлялось изучение возможных глутаматергических эффектов соединения ДАБ-19. Указанные эффекты соотносятся с ролью наиболее интересных ионотропных глутаматных рецепторов (NMDA и Ca²⁺-проницаемые AMPA-рецепторы), регулирующих транспорт кальция [Washburn et al., 1997; Plutino et al., 2019].

В ходе экспериментальной работы была проверена способность ДАБ-19 блокировать NMDA, кальций-проницаемые (CP) и кальций-непроницаемые (CI)-AMPA-рецепторы пирамидальных клеток гиппокампа крыс⁷. Аппликация агонистов вызывала возникновение входящих токов в пирамидных нейронах гиппокампа и гигантских интернейронах стриатума при потенциале на мембране - 80 мВ. Для определения процента ингибирования этих токов веществом ДАБ-19 был использован следующий протокол: аппликация агониста - коапликация агониста с блокатором - отмыв агонистом. Использовались следующие концентрации ДАБ-19: NMDA рецепторы – 1, 3, 10, 30, 45, 60, 100 μМ; кальций-непроницаемые AMPA-рецепторы – 1, 3, 10, 30, 100 μМ; кальций-проницаемые AMPA-рецепторы – 1, 3, 10, 15, 30 μМ.

⁷ Выражаем искреннюю благодарность д.б.н., чл-кор. РАН Д.Б. Тихонову, к.б.н., в.н.с. О.И. Барыгину, м.н.с. М.Ю. Дроню за предоставление информационных описаний скринингового исследования глутаматергической активности соединений ДАБ-19 и ДАБ-21

По результатам исследования, ДАБ-19 является антагонистом трёх типов глутаматных ионотропных рецепторов: NMDA, кальций-непроницаемых АМРА и кальций-проницаемых АМРА. ДАБ-19 является низкоселективным высокоспецифичным антагонистом глутаматных ионотропных каналов (таблица 5.6. 5.7).

Таблица 5.6 – Антагонистическое действие ДАБ-19 (0,1 мкМ) с NMDA- и АМРА-глутаматергическими рецепторами гиппокампа крыс

	NMDAR	CI-AMPA	CP-AMPA
Мемантин	100%	-	-
Перампенел	-	100%	100%
Кетамин	100%	-	-
ДАБ-19	100%	100%	100%

Таблица 5.7 - Результаты аппроксимации полученных данных с помощью уравнения Хилла

Подтип рецепторов	ИК ₅₀ , мМ	Коэффициент Хилла
NMDA-рецепторы	11,0±1,6	1,03±0,14
Кальций-непроницаемые АМРА-рецепторы	15,5±1,5	1,42±0,17
Кальций-проницаемые АМРА-рецепторы	4,8±0,9	1,3±0,3

Примечание: Полученные значения ИК₅₀ для трёх основных подтипов ионотропных глутаматных рецепторов оказались в узком диапазоне 5-16 мМ, наиболее активно ДАБ-19 ингибировал кальций-проницаемые АМРА рецепторы

ДАБ-19 концентрационно зависимым образом ингибировал все три основных подтипа ионотропных глутаматных рецепторов. Полученные данные по действию вышеуказанных концентраций ДАБ-19 на NMDA-, кальций-непроницаемые и кальций-проницаемые АМРА-рецепторы представлены на рисунке 5.11.

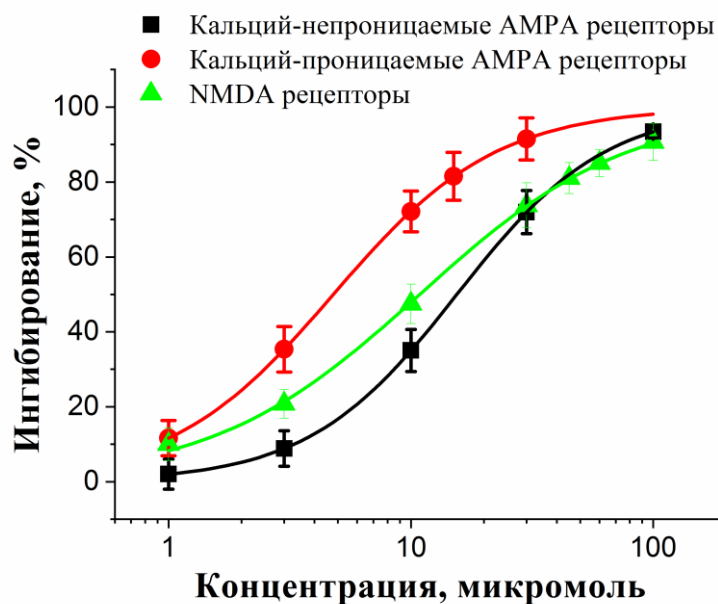


Рисунок 5.11 - Концентрационные зависимости действия ДАБ-19 на NMDA, кальций-непроницаемые и кальций-проницаемые АМРА-рецепторы

Для того, чтобы определить, является ли ДАБ-19 конкурентным антагонистом ионотропных глутаматных рецепторов, осуществлялась аппликация антагониста при двух концентрациях агониста – высокой (300 μM) и низкой (30 μM) без изменения концентрации антагониста. На рисунке 5.12 представлены три столбчатые диаграммы для каждого типа рецепторов. Уровень блокады при использовании 30 и 300 μM при фиксированной концентрации соединения ДАБ-19 не изменялся – это, в свою очередь, свидетельствует о неконкурентном действии ДАБ-19 на NMDA-, CI-AMPA и CP-AMPA рецепторы.

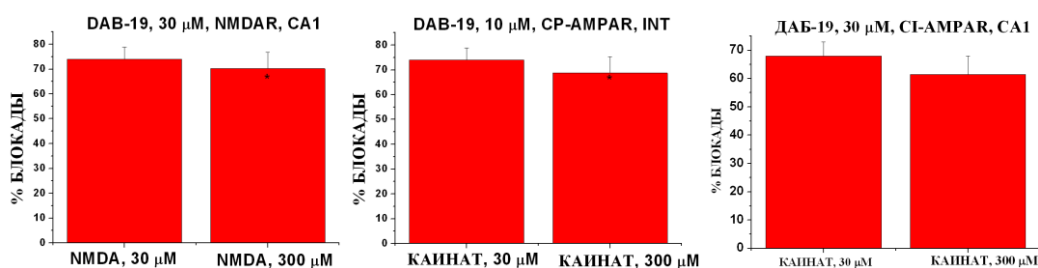


Рисунок 5.12 - Аппликация ДАБ-19 при концентрация агонистов 30 и 300 μM

Молекула ДАБ-19 несёт положительный заряд +2 при физиологических значениях рН, это позволяет проверить потенциалзависимость взаимодействия трех типов рецептора с антагонистом и определить, на каком уровне канала

рецептора это взаимодействие осуществляется. ДАБ-19 взаимодействует с NMDA- и кальций-проницаемыми AMPA-рецепторами потенциалзависимо, в отличие от кальций-непроницаемых AMPA-рецепторов. На рисунках 5.13 и 5.14 показано изменение уровня блокады при различных уровнях фиксируемого потенциала. Параметр δ для NMDA-рецептора составляет $0,33 \pm 0,05$ и $0,18 \pm 0,04$ для CP-AMPA рецептора соответственно, что свидетельствует о том, что связывание молекул ДАБ-19 осуществляется на поверхностных участках канала рецептора. ДАБ-19 не проявляет свойств потенциалзависимости в отношении CI-AMPA-рецептора.

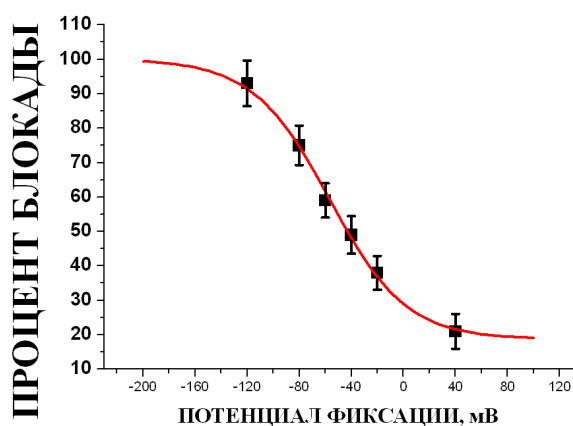


Рисунок 5.13 - Потенциалзависимость ДАБ-19 (20 мкмоль, NMDA-рецептор). Полученный параметр дельта равен $0,33 \pm 0,05$

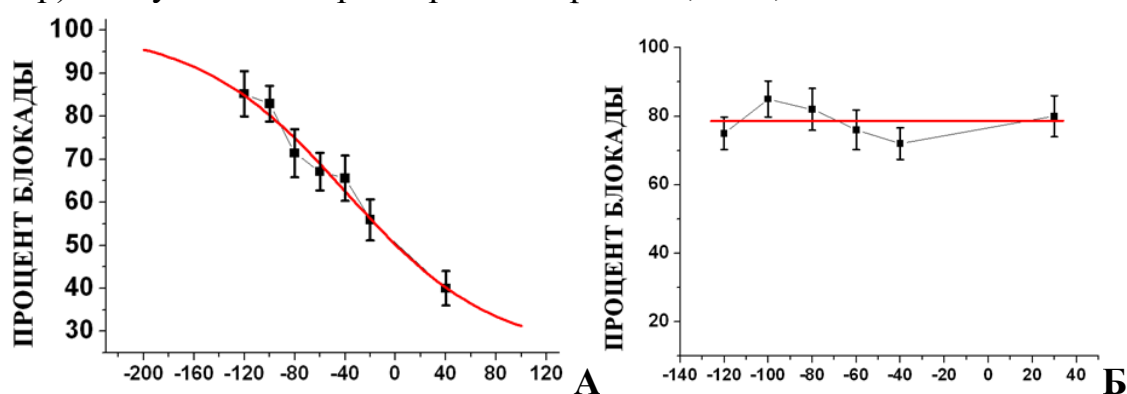


Рисунок 5.14 - Потенциалзависимость ДАБ-19, 10 микромоль, CP-AMPA рецептор, А. Полученный параметр дельта равен $0,18 \pm 0,04$. ДАБ-19 не проявляет свойств потенциалзависимости в отношении CI-AMPA рецептора, Б

В закрытом состоянии двух типов каналов (CI-AMPA, CP-AMPA) молекулы ДАБ-19 способны связываться с сайтами, приводящими к их аллостерической модификации и последующей инактивации. В момент подачи агониста можно

увидеть, что активация каналов происходит не сразу, а по истечении некоторого времени: в этот момент молекулы ДАБ-19 покидают сайты связывания, в то время как агонист постепенно активирует каналы, нормализуя уровни тока до стационарных. NMDA-ток после действия ДАБ-19 на закрытые каналы достигает уровня контрольной аппликации, что свидетельствует только о потенциал-зависимом действии на NMDA-рецепторы (рисунок 5.15).

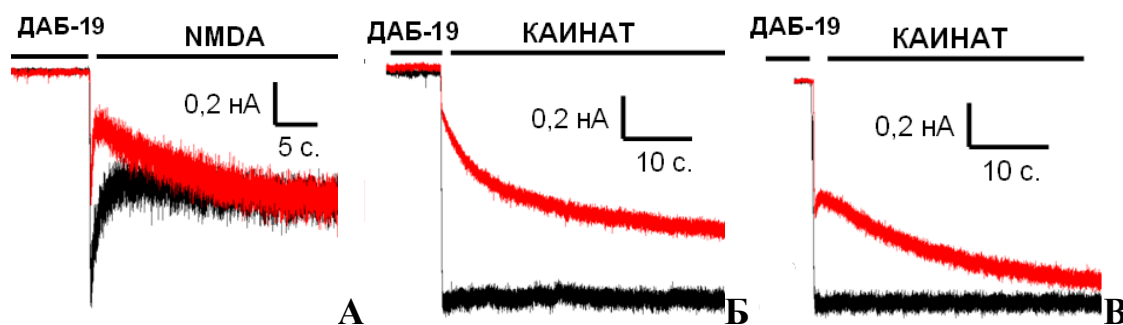


Рисунок 5.15

А. NMDA-рецептор, NMDAR (100 мкмоль) + глицин (10 мкмоль), после аппликации ДАБ-19 (100 мкмоль) с ACSF на закрытые каналы. Отсутствуют эффекты аллостерической модификации.

Б. Кальций-непроницаемые AMPA-рецепторы (Ca, 100 мкмоль), после аппликации ДАБ-19 (100 мкмоль) с ACSF на закрытые каналы. Развитие ответа на агонист происходит постепенно вследствие отмыва связавшегося с рецептором антагониста. Переход канала из закрытой конформации в открытую.

В. Кальций-проницаемые AMPA-рецепторы (Ca, 100 мкмоль), после аппликации ДАБ-19 (100 мкмоль) с ACSF на закрытые каналы. Развитие ответа на агонист происходит постепенно вследствие отмыва связавшегося с рецептором антагониста. Переход канала из закрытой конформации в открытую. Чёрным отмечена контрольная аппликация.

Наличие блокады положительно заряженными молекулами в положительно заряженном поле мембраны также свидетельствует об аллостерическом компоненте блокады. На рисунке 5.16 изображена блокада ДАБ-19 в концентрации 6 мкмоль кальций-проницаемых AMPA-рецепторов при потенциале фиксации -30 mV и $+30$ mV, что ещё раз подтверждает факт связывания ДАБ-19 в аллостерическом сайте регуляции канала.

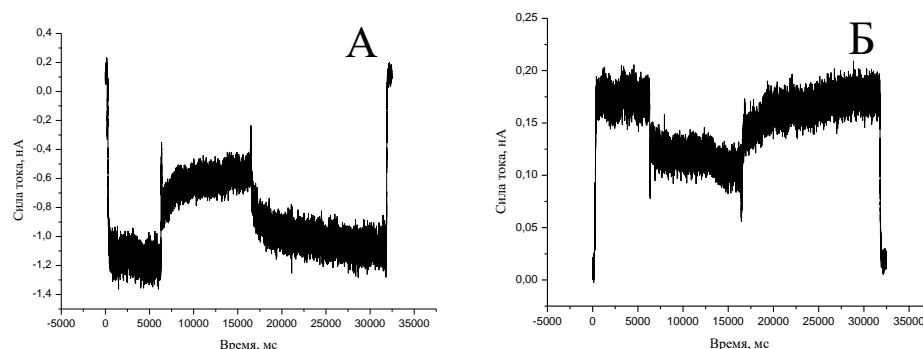


Рисунок 5.16 – А. ДАБ-19 блокирует кальций-проницаемые АМРА-рецепторы в концентрации 6 мкмоль, потенциал фиксации -30 mV. Б. то же, потенциал фиксации +30 mV. Несмотря на то, что мембрана заряжена положительно, отчетливо видна блокада канала, как и при потенциале фиксации -30 mV

Проведенный анализ показал, что ДАБ-19 влияет на NMDA-рецептор как неконкурентный потенциал-зависимый блокатор поры канала, в то время как связывание ДАБ-19 с CI-АМРА рецептором носит характер аллостерической модификации рецептора. Для CP-АМРА рецептора взаимодействие с ДАБ-19 осуществляется сразу двумя механизмами: блокада поры канала и аллостерическая модификация рецептора.

5.2.2.3 Активности соединения в отношении кальциевых каналов L-типа

Как было показано в главе 5.1, для соединения ДАБ-19 возможны эффекты, связанные с регуляцией Ca-каналов. По результатам проведенного исследования показано подавление соединением ДАБ-19 KCl-индуцированных сокращений изолированной подвздошной кишки крыс *in vitro* в дозах 10 и 20 мкмоль, что, однако, не достигает уровня значений препарата сравнения верапамила (20 мкмоль), таблица 5.8. Однако, в отличие от прогнозной оценки, вещество блокировало кальциевые каналы.

Таблица 5.8 - Влияние соединения ДАБ-19, диазепама и верапамила на KCl-индуцированные сокращения изолированной подвздошной кишки крыс *in vitro*

Соединение	Активность, Δ%
Верапамил (20 мкмоль)	-98,3±1,38
Диазепам (20 мкмоль)	-31,3±4,86
ДАБ-19 (20 мкмоль)	-73,5±4,26
ДАБ-19 (10 мкмоль)	-78,7±3,47

5.2.2.4 Заключение

При изучении механизмов анксиолитического действия соединения-лидера в тестах *in vitro* установлено, что вещество ДАБ-19 является неконкурентным потенциал-зависимым блокатором NMDA-рецептора, а также аллостерическим модулятором кальций-непроницаемых и кальций-проницаемых AMPA-рецепторов. Данные подтверждают ранее полученные результаты прогноза активности изучаемого класса соединений. Для вещества показана умеренная блокирующая активность в отношении кальциевых каналов L-типа, а также отсутствие влияния на 5-HT_{2A} β-аррестинный сигналинг.

5.3 Изучение анксиолитических механизмов действия соединения ДАБ-21

Для уточнения спрогнозированных ранее возможных механизмов действия соединения ДАБ-21 был проведен расширенный фармакологический анализ его эффектов *in vivo* и *in vitro*.

5.3.1 Взаимодействие соединения с лигандами нейромедиаторных систем *in vivo*

Для фармакологического анализа механизмов действия соединения ДАБ-21 изучено его взаимодействие с ГАМК-ергической (тесты взаимодействия с флумазенилом и пикротоксином), серотонинергической (5-гидрокситриптофановый гиперкинез), холинергической (тесты взаимодействия с ареколином и никотином), дофаминергической (взаимодействие с апоморфином и галоперидолом), адренергической (тесты резерпиновой и клофелиновой гипотермий) системами, а также была изучена MAO-ингибирующая активность соединения ДАБ-21 в тесте взаимодействия с L-ДОФА.

5.3.1.1 Оценка влияния флумазенила на эффекты соединения в тесте

«Приподнятый крестообразный лабиринт»

По завершении анализа взаимодействия соединения ДАБ-21 с флумазенилом в условиях методики ПКЛ были сформулированы следующие результаты. В условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» было отмечено, что время, проведенное мышами в открытых рукавах установки, в контрольной группе составило $27,0 \pm 6,05$ с, а в группе препарата сравнения

диазепама (1 мг/кг) – $69,2 \pm 7,20$ с. Под действием флумазенила в дозе 1 мг/кг величина эффекта диазепама снижалась в 2,8 раза и составляла $25,8 \pm 2,76$ с. Время, проведенное мышами в открытых рукавах установки ПКЛ, под влиянием соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг составило $114,7 \pm 8,70$ с, а под влиянием флумазенила показатель был снижен практически в 5 раз и составил $23,2 \pm 2,73$ с. Число выходов в светлый рукав установки под влиянием соединения ДАБ-21 составило $4,0 \pm 0,44$, а при введении флумазенила уменьшалось до $0,6 \pm 0,33$, что даже несколько ниже показателей контрольной группы. Таким образом, антагонистическое взаимодействие изучаемого соединения ДАБ-21 с флумазенилом в условиях проведенного эксперимента не вызывает сомнений (рисунок 5.17).

Результаты, полученные в этом тесте, позволяют сделать предположение о возможном бензодиазепиновом действии вещества, посредством аллостерической модуляции бензодиазепинового сайта ГАМК-рецептора (содержащих модификации α_1 , β_x , и γ_2 субъединиц), характерной для флумазенила [Сао et al., 2019]. Данные согласуются с предварительной прогнозной оценкой, полученной методом максимального сходства к эталонам.

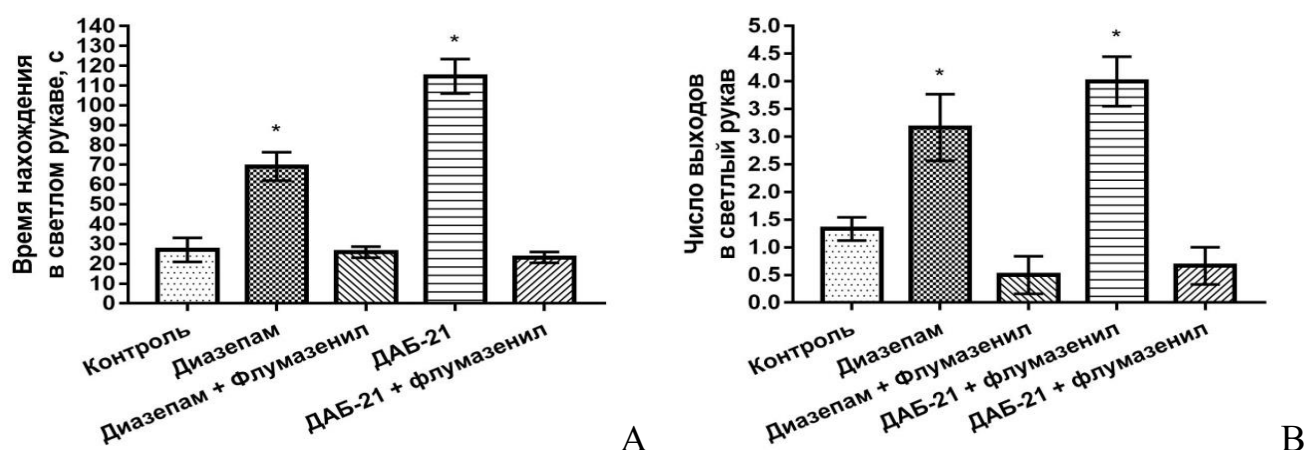


Рисунок 5.17 - Влияние флумазенила (1 мг/кг, в/б) на проявление анксиолитической активности соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$. А – Время нахождения в светлом рукаве; В – Общее число выходов в светлый рукав. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.3.1.2 Влияние соединения на эффекты пикротоксина

По результатам проведенного тестирования не было отмечено значимого влияния изучаемого соединения ДАБ-21 на судорожные эффекты пикротоксина по всем изучаемым параметрам – латентному времени возникновения тремора, латентному времени первого судорожного приступа и общему числу судорожных приступов за время наблюдения (рисунок 5.18). Учитывая прямое блокирующее влияние пикротоксина на ГАМК_A-рецепторы [Carpenter et al., 2013], можно сделать вывод об отсутствии непосредственного влияния соединения ДАБ-21 на открытие хлорных каналов.

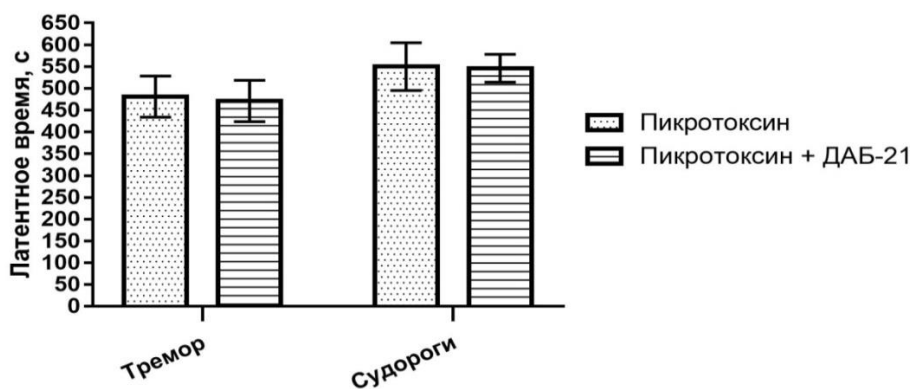


Рисунок 5.18 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на латентное время возникновения тремора и судорог, количество судорожных приступов и летальность в тесте с пикротоксином (2,5 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.3.1.3 Действие соединения на выраженность эффектов

5-гидрокситриптофана

В ходе исследования взаимодействия соединения ДАБ-21 с 5-гидрокситриптофаном отмечено значительное повышение числа встряхиваний головой у мышей, начиная с 30-й минуты тестирования до конца времени наблюдения. Согласно литературным данным, эффекты 5-гидрокситриптофана опосредуются через 2 тип серотониновых рецепторов, в частности, в тесте встряхивания головой у крыс [Yar et al., 1983]. Полученные данные позволяют предполагать 5-НТ₂-опосредованное серотонинергическое действие соединения ДАБ-21 (рисунок 5.19). Полученные результаты согласуются с ранее

полученными данными об анксиолитическом и антидепрессивном действиях вещества (глава 4). Такой набор эффектов схож со способностью 5-гидрокситриптофана участвовать в лечении депрессии, тревоги, паники и иных нарушений [Maffei, 2020; Kahn et al., 1985]. Если сравнивать серотониновое действие соединения ДАБ-21 с ранее предсказанными эффектами, стоит отметить, что количество возможных серотонин-опосредованных влияний в системе PASS ниже, чем при прогнозе активности химического класса. Тем не менее, появляется вероятность влияния вещества на количество нейромедиатора (серотонина). Такое действие характерно и для 5-гидрокситриптофана, но причины формирования такого эффекта иные и напрямую сопряжены с тем, что 5-ГТФ используется как субстрат и тем самым повышает уровень серотонина в мозге [Miller et al., 2000].

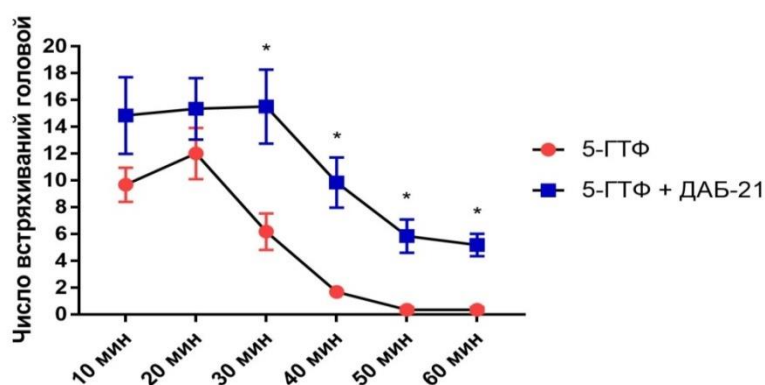


Рисунок 5.19 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана (5-ГТФ, 300 мг/кг, в/б), мыши, $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.3.1.4 Влияние соединения на выраженность ареколинового тремора

В результате изучения взаимодействия М-холиномиметика ареколина с экспериментальным соединением ДАБ-21 было отмечено, что латентное время возникновения судорог и длительность тремора, вызванного ареколином, несущественно различались в контрольной и опытной экспериментальных группах (рисунок 5.20). Согласно предварительной прогнозной оценке соединения, для вещества было показано возможное влияние на ацетилхолинэстеразу. Учитывая отсутствие статистически значимых изменений с

группой, получавшей М-холиномиметик, можно сделать косвенный вывод, что соединение ДАБ-21 также не способно ингибировать ацетилхолинэстеразу.

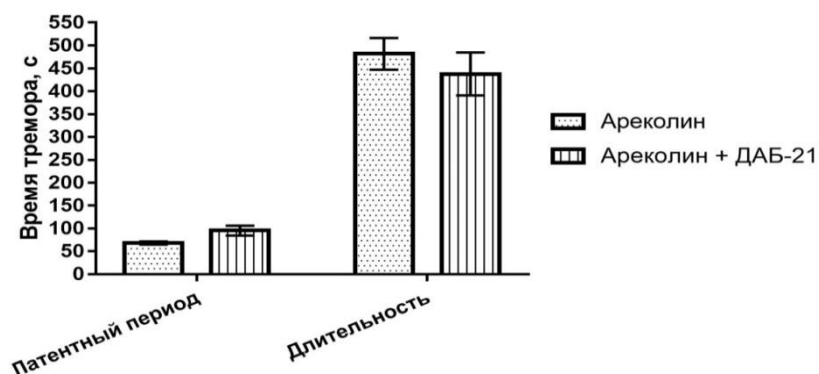


Рисунок 5.20 – Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на выраженность тремора, вызванного введением ареколина (15 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.3.1.5 Действие соединения на эффекты L-ДОФА

По результатам изучения взаимодействия соединения ДАБ-21 с L-ДОФА было отмечено повышение стереотипии крыс в группе соединения ДАБ-21 на 30-й минуте тестирования. На протяжении остального времени наблюдения не было отмечено значимых различий по параметру выраженности стереотипии у крыс, получавших L-ДОФА в малых дозах (100 мг/кг), и у животных, получавших помимо L-ДОФА в малых дозах, соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг. Полученные данные косвенно свидетельствуют о слабом влиянии изучаемого соединения ДАБ-21 на моноаминоксидазу (рисунок 5.21). Указанный эффект, возможно, связан со способностью L-ДОФА в малых дозах (100 мг/кг) вызывать стереотипию при введении совместно с неселективными ингибиторами моноаминоксидазы у крыс и мышей, индуцируя стереотипную гиперактивность в ответ на леводопу (L-ДОФА), в результате повышенного синтеза и высвобождения дофамина и серотонина соответственно [Sagi et al., 2005; Krishna et al., 2014]. Такой эффект согласуется с антидепрессивными свойствами ДАБ-21.

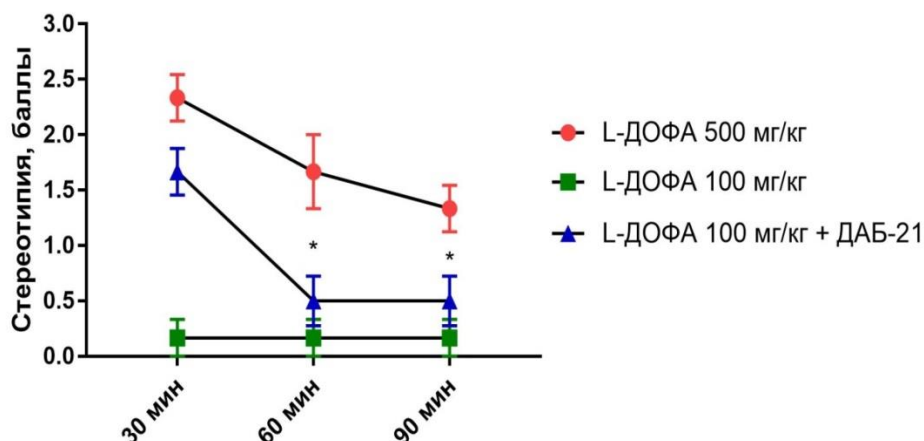


Рисунок 5.21 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на эффекты L-ДОФА (100 и 500 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.3.1.6 Влияние соединения на выраженность эффектов никотина

Изучение холинергического влияния связано с результатами прогноза механизмов противотревожного действия соединения ДАБ-21 в системе PASS. В ходе анализа интеракции соединения ДАБ-21 с никотином в малой и большой дозе не зарегистрировано значимых отличий между группами, что свидетельствует об отсутствии у соединения ДАБ-21 Н-холинергического компонента механизма действия (таблица 5.9).

Таблица 5.9 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на выраженность эффектов низкой пороговой дозы (2 мг/кг, в/б) и высокой дозы (4 мг/кг, в/б) никотина у мышей, $M \pm m$

	Контроль 1 дис.вода + никотин 2 мг/кг	Контроль 2 дис.вода + никотин 4 мг/кг	ДАБ-21 + никотин 2 мг/кг	ДАБ-21 + никотин 4 мг/кг
Количество животных у которых возник тремор (%)	100	100	100	100
Количество животных у которых возникли судороги (%)	0	100 [#]	0	100 [#]

Примечания: пероральное введение ДАБ-21 за 30 мин до никотина; * – отличия по отношению к контрольной группе 1 статистически значимы ($p < 0,05$, критерий согласия Пирсона).

5.3.1.7 Оценка действия соединения на выраженность стереотипного поведения крыс, вызванного апоморфином

По итогам исследования взаимодействия соединения ДАБ-21 с пресинаптическим дофаминометиком апоморфином кривая эффекта изучаемого соединения статистически несущественно отличается от контрольной группы, получавшей апоморфин, по параметру стереотипного поведения (рисунок 5.22). Апоморфин является низкоселективным агонистом дофаминовых рецепторов, а тесты с его использованием позволяют определить возможные нейролептические эффекты соединений [Auffret et al., 2018]. Отсутствие катехиновой части у исследуемой молекулы, вероятно, снижает дофаминовый потенциал соединения ДАБ-21.

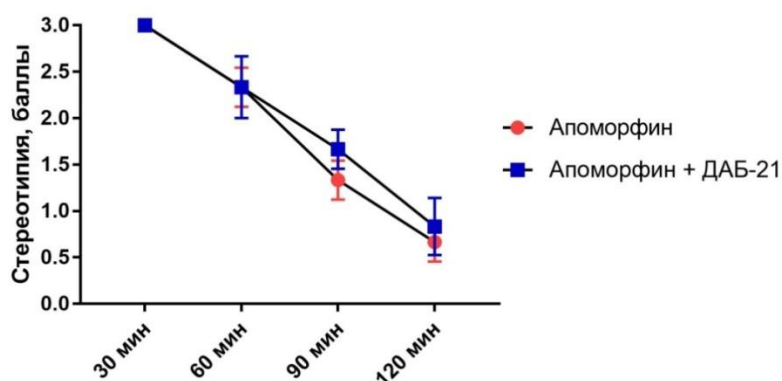


Рисунок 5.22 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на стереотипию, вызванную апоморфином (0,1 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.3.1.8 Изменение каталептогенного эффекта галоперидола при введении соединения

Под влиянием соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг было отмечено некоторое снижение выраженности каталепсии, вызванной введением галоперидола, что может быть связано со слабым дофаминомиметическим действием соединения ДАБ-21, которое, в целом, является характерным для веществ с анксиолитической и антидепрессивной активностью (рисунок 5.23). Однако для галоперидола характерно широкое влияние на дофаминовую,

норадренергическую, холинергическую и гистаминергическую системы [Gao et al., 2023]. В тоже время, результаты теста нельзя назвать однородными, и они имеют хоть и статистически значимый, но артефактный характер. В частности, снижение эффектов галоперидола на 15 минуте, потенциал к указанному действию на 45 минуте и снижение на треть на 120 минуте. Учитывая ранее полученные результаты в тесте с агонистом 5-HT₂-рецептора, можно предположить возможные эффекты, опосредованные через взаимодействие между D₂- и 5-HT₂-рецепторами. Такой тип взаимодействия не является новым [Di Giovanni et al., 2010]. При этом имеются разнонаправленные данные о способах и результатах регуляции такого взаимодействия [Blasi et al., 2015], это позволяет предположить участие серотонинового звена в способности соединения ДАБ-21 изменять эффекты галоперидола.

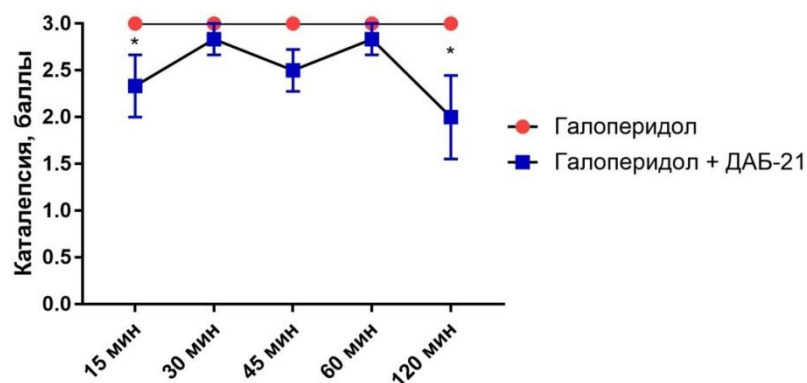


Рисунок 5.23 - Влияние соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на каталепсию, вызванную галоперидолом (3 мг/кг, в/б), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

5.3.1.9 Изменение гипотермического эффекта клофелина при введении соединения

В эксперименте по изучению α_2 -адренергических свойств соединения ДАБ-21 было зарегистрировано, что уже на 30-й минуте тестирования уровень ректальной температуры мышей в группе соединения ДАБ-21 составил $36,5 \pm 0,32^\circ\text{C}$, что значительно выше, чем в группе клофелина. До конца периода наблюдения уровень температуры группы соединения ДАБ-21 был выше показателей группы клофелина, но не достигал интактных значений. Клофелин

действует путем стимуляции пресинаптических α_2 -адренорецепторов, тем самым уменьшая высвобождение норадреналина как из центральных, так и из периферических симпатических нервных окончаний [Jamadarkhana et al., 2010]. Полученные данные свидетельствуют о α_2 -адреноблокирующем эффекте соединения ДАБ-21 (рисунок 5.24). Полученные эффекты согласуются с обоими прогнозными оценками, полученными как методом максимального сходства к эталонам, так и в системе PASS. В последней указанный вид активности был наиболее вероятным по показателю Pa (вероятности «быть активным»).

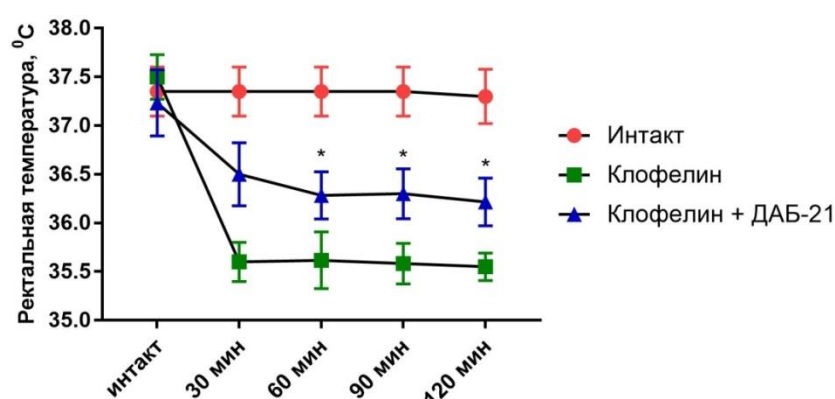


Рисунок 5.24 - Изменение гипотермического эффекта клофелина (0,1 мг/кг, в/б) при введении соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.3.1.10 Действие соединения на эффекты резерпина

По результатам исследования не было отмечено влияния соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг на симпатолитические эффекты резерпина в дозе 2,5 мг/кг (рисунок 5.25). Однако помимо указанного симпатолитического действия, резерпин ингибирует захват норадреналина и необратимо блокирует везикулярный транспортер моноаминов 2 типа (VMAT₂) [Leão et al., 2017; Shamon et al., 2016]. При прогнозе методом максимального сходства к эталонам для производных была показана возможность влияния на везикулярные аминотранспортеры (VMAT). В связи с этим, стоит отметить, что соединение ДАБ-21 не только не оказывает влияния на симпатолитические эффекты

резерпина, но и, скорее всего, не оказывает влияния и на везикулярный транспорт норадреналина.

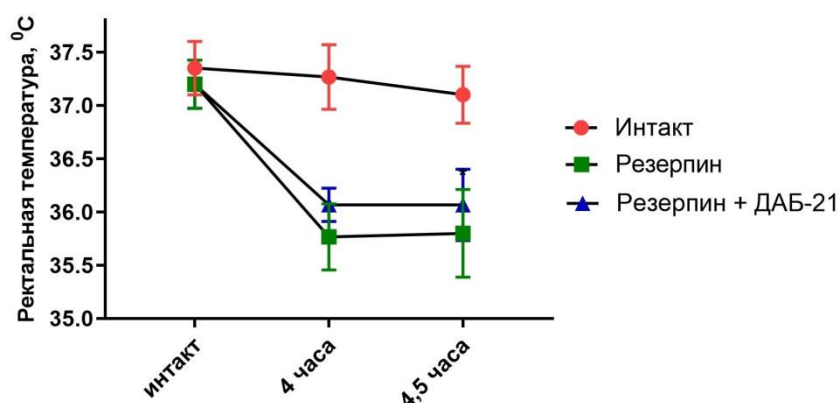


Рисунок 5.25 – Изменение эффектов резерпина (2,5 мг/кг, в/б) при введении соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), $M \pm m$. Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.3.1.11 Оценка содержания моноаминов и их метаболитов в головном мозге мышей

По результатам проведенного исследования было отмечено, что концентрация серотонина под влиянием соединения ДАБ-21 была повышена до $427,7 \pm 23,54$ нг/мл, что приблизительно соответствует уровню групп амитриптилина и флуоксетина, проявивших выраженный серотонинергический эффект в условиях проведенного тестирования. Для группы соединения ДАБ-21 также отмечено статистически значимое различие изучаемого параметра с группой негативного контроля (ХНЛС). Соотношение 5-ОИУК/серотонин для исследуемого соединения ДАБ-21 равно 0,1, что наиболее близко к показателям группы флуоксетина – 0,11.

Концентрация норадреналина в группе соединения ДАБ-21 была снижена относительно интактной группы и соответствовала показателям группы ХНЛС. Содержание дофамина в биологических пробах было снижено не только по сравнению с группой интактного контроля, но и группы ХНЛС. В свою очередь, концентрация метаболита дофамина ДОФУК статистически значимо повышена в

группе соединения ДАБ-21 относительно группы ХНЛС. Сводные данные по полученным результатам приведены на рисунке 5.26.

Коэффициент соотношения ДОФУК/дофамин для группы соединения ДАБ-21 составил 1,07, что также наиболее близко к параметрам флуоксетина – 1,09. Исходя из изложенного, соединение ДАБ-21 практически не влияет на профиль метаболизации дофамина. Соотношения 5-ОИУК/серотонин и ДОФУК/дофамин для соединения ДАБ-21 практически идентичны таковым для флуоксетина, что позволяет предполагать серотонинергический путь механизмов реализации анксиолитического и антидепрессивного эффектов соединения ДАБ-21. Приведенная схожесть профилей флуоксетина и соединения ДАБ-21 может также указывать на признаки принадлежности вещества к группе селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, что, в целом, согласуется с фармакологической активностью изучаемого соединения. В тоже время, такое действие характерно и для блокаторов моноаминооксидазы, в частности, повышение серотонина согласуется с ранее полученными результатами взаимодействия экспериментального соединения с L-ДОФА, что позволяет предполагать ингибирование моноаминооксидазы. Наиболее известным примером комбинирования таких эффектов является пирлиндол, основным механизмом действия которого является избирательное и обратимое ингибирование моноаминооксидазы А, а вторичным механизмом действия лекарственное средство ингибирует обратный захват норадреналина и 5-гидрокситриптамина [Bruhwyler et al., 1997]. Также для пирлиндола отмечена способность блокировать α_2 -адренорецепторы и 1a подтип серотониновых рецепторов (European Patent Office EP3054950A1). При этом, для препарата показано отсутствие влияния на дофаминовую и холинергическую системы [Bruhwyler et al., 1997]. Указанный профиль лекарственного средства достаточно близок к эффектам, выявленным для соединения ДАБ-21.

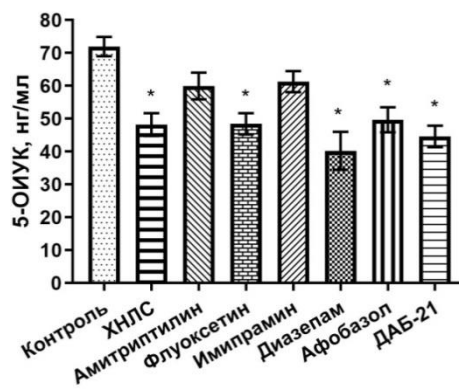
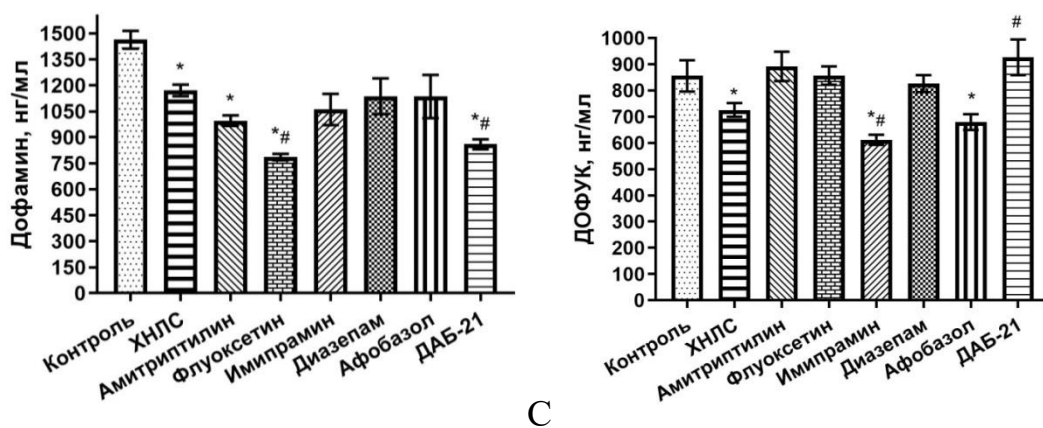
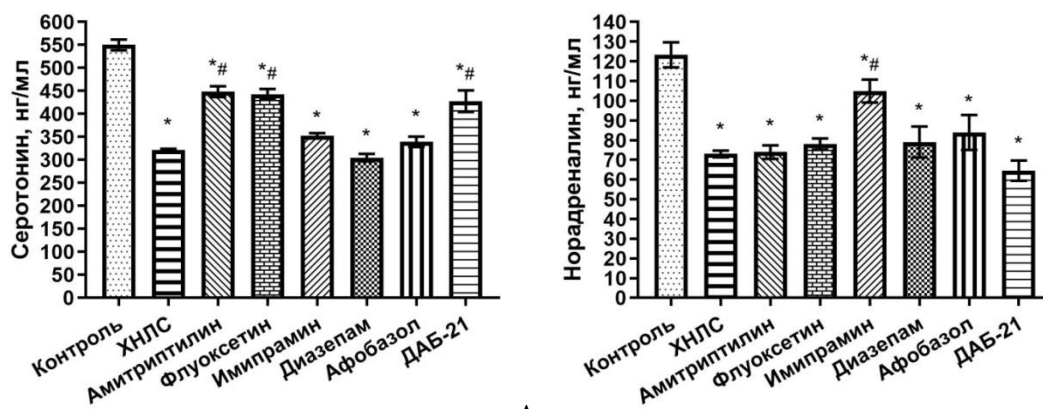


Рисунок 5.26 – Количественные показатели содержания моноаминов и их метаболитов на целом мозге мышей с использованием ВЭЖХ, на модели непредсказуемого легкого стресса (ХНЛС), при 14 дневном введении амитриптилина (10 мг/кг, в/ж), флуоксетина (10 мг/кг, в/ж), имипрамина (8 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), афобазола (5 мг/кг, в/ж) и соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг, внутривенно), $M \pm m$. А - Серотонин; В – Норадреналин; С – Дофамин; Д – ДОФУК (3,4- диоксифенилуксусная кислота); Е – 5-ОИУК (5-оксииндолуксусная кислота). Примечание: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

5.3.1.12 Заключение

На втором этапе изучения механизмов анксиолитического действия соединения ДАБ-21 исследована способность экспериментального вещества взаимодействовать с лигандами нейромедиаторных систем, которые были выбраны по результатам прогнозной оценки, как базовой структуры соединений, так и в системе PASS для соединения-лидера.

Среди спектра изученных эффектов соединения ДАБ-21 можно выделить 4 системы: ГАМК-ергическую, серотонинергическую, адренергическую и дофаминергическую. По результатам исследования с использованием методов *in vivo*, было показано, что наиболее выраженными были взаимодействия тестируемого вещества с антагонистом бензодиазепинового сайта ГАМК_A-рецептора – флумазенилом и агонистом 2 типа серотониновых рецепторов - 5-гидрокситриптофаном. Указанные эффекты полностью согласуются с прогнозом выполненном на 1 этапе изучения механизмов анксиолитического действия и полученными нейропсихотропными эффектами соединения. Более интересно действие вещества на адренергическую и дофаминергическую нейромедиаторные системы. Так, полученные в результате взаимодействия с клофелином данные о вероятном α_2 -адреноблокирующем действии можно трактовать как умеренный вид активности. Указанный механизм действия полностью согласуется с результатами прогноза. При изучении возможного влияния на дофаминергическую систему соединение ДАБ-21 изменяло эффекты блокатора D₂-дофаминовых рецепторов - галоперидола и предшественником дофамина - L-ДОФА (леводопы). Оба эффекта не противоречат друг другу. Так, галоперидол блокирует D₁- и постсинаптические D₂-дофаминовые рецепторы в мезолимбической системе мозга, является обратным агонистом D₃-дофаминовых рецепторов [Zaremba et al., 2023], а также ингибирует норадренергическую, холинергическую и гистаминергическую системы [Gao et al., 2023]. Галоперидол способен блокировать NMDA-глутаматные рецепторы [Gu et al., 2007]. Соединение ДАБ-21 облегчало вызванную галоперидолом каталепсию, тем самым оказывая продофаминергическое действие. Однако, существует значительное

количество механизмов, которые могут влиять на формирование каталептогенного действия галоперидола. К примеру, NMDA-глутаматные рецепторы способны изменять указанный эффект [Hattori et al., 2006]. 5-HT₂-серотонинергическое влияние способно изменять эффекты дофаминовых рецепторов 2 типа [Di Giovanni et al., 2010; Blasi et al., 2015]. Сомнение вызывает также нестабильность эффекта. Влияние на стереотипию, вызванную L-ДОФА, также имеет некоторые особенности. Так, вызывать стереотипное поведение в низких дозах L-ДОФА, в большей степени, характерно для неселективных ингибиторов моноаминоксидазы, которые повышают синтез и высвобождение дофамина и серотонина [Sagi et al., 2005; Krishna et al., 2014]. Такие эффекты частично наблюдались при анализе результатов содержания моноаминов и их метаболитов на мозге мышей, где отмечалось достоверное увеличение серотонина и продукта метаболизма дофамина – диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК).

5.3.2 Влияние соединения ДАБ-21 на различные рецепторные системы *in vitro*

5.3.2.1 Глутаматергическое действие соединения

По результатам предварительного прогноза возможных анксиолитических механизмов действия производных 11*H*-[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола одним из наиболее вероятных эффектов было NMDA-глутаматергическое действие, также в рамках PASS-прогноза были получены результаты возможного влияния на ионные каналы, в частности кальциевые. На основании этого интересным представлялось изучение возможных глутаматергических эффектов соединения ДАБ-21. Указанные эффекты соотносятся с ролью наиболее интересных ионотропных глутаматных рецепторов (NMDA и Ca²⁺-проницаемые AMPA-рецепторы), регулирующих транспорт кальция [Washburn et al., 1997; Plutino et al., 2019].

В ходе экспериментальной работы была также проверена способность ДАБ-21 блокировать NMDA, кальций-проницаемые (CP) и кальций-непроницаемые (CI) AMPA-рецепторы пирамидальных клеток гиппокампа крыс. Степень антагонизма ДАБ-21 в концентрации 100 мкМ с NMDAR составила 27%, а с CI-

AMPA – 15%, что, в целом, свидетельствует об отсутствии выраженного влияния соединения ДАБ-21 на глутаматергическими AMPA-рецепторы (таблица 5.10). Однако, полученные данные позволяют утверждать, что соединение ДАБ-21 является слабоактивным антагонистом глутаматовых NMDA- и AMPA-рецепторов.

В связи с низким уровнем активности экспериментального вещества в дозе 0,1 мкМ, развернутых исследований глутаматергической активности не проводилось.

Таблица 5.10 – Антагонистическое действие ДАБ-21 (0,1 мкМ) с NMDA- и AMPA-глутаматергическими рецепторами гиппокампа крыс

	NMDAR	CI-AMPA	CP-AMPA
Мемантин	100%	-	-
Перампенел	-	100%	100%
Кетамин	100%	-	-
ДАБ-21	27%	15%	-

5.3.2.2 Оценка 5-НТ_{2A}-β-аррестинового сигналинга действия соединения

По результатам прогноза было показано, что производные 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола могут влиять на серотониновые рецепторы. Затем было показано влияние соединения ДАБ-21 на гиперкинез, вызванный 5-гидрокситриптофаном. Учитывая, что указанное действие обосновывается, прежде всего, влиянием на 5-НТ₂-серотониновые рецепторы [Yap et al., 1983], а также многообразие возможных способов модуляции сигнала [Bohn et al., 2010], интересным представляется способность экспериментального вещества влиять на сигнальный путь 5-НТ₂-рецептора, опосредованный β-аррестиновым внутриклеточным каскадом.

По результатам исследования, в исследуемой концентрации 0,1 мкМ отношение интенсивности FRET при двух длинах волн для соединения ДАБ-21 не превышает данный показатель препарата сравнения ципрогептадина и соответствует показателям контрольных значений, что свидетельствует об отсутствии 5-НТ_{2A}-серотонинового β-аррестин-опосредованного действия соединения ДАБ-21 (таблица 5.5).

Таблица 5.11 - Изучение наличия у соединения ДАБ-21 (0,1 мкМ) 5-НТ-_{2A}-антагонистического действия *in vitro* на модели TangoTM HTR_{2A}-bla U2OS DA

	Отношение интенсивности FRET
Контроль	2,4
Ципрогептадин	1,67±0,183
ДАБ-21	2,68±0,361

5.3.2.3 Активность соединения в отношении кальциевых каналов L-типа

По результатам прогнозной оценки для соединения ДАБ-21 отмечена вероятность влияния на ионные каналы, в частности, в главе 5.3.2.1 показана способность соединения блокировать кальциевые AMPA-глутаматные рецепторы. Интересным представляется изучить возможные эффекты вещества на каналы L-типа. Согласно полученным данным, для соединения под шифром ДАБ-21 не отмечено значимого влияния на кальциевые каналы L-типа в условиях KCl-индуцированных сокращений изолированной подвздошной кишки крыс *in vitro* (таблица 5.12).

Таблица 5.12 - Влияние соединения ДАБ-21, диазепама и верапамила на KCl-индуцированные сокращения изолированной подвздошной кишки крыс *in vitro*

Соединение	Активность, Δ%
Верапамил (20 мкмоль)	-98,3±1,38
Диазепам (20 мкмоль)	-31,3±4,86
ДАБ-21 (20 мкмоль)	-10,8±7,08

5.3.2.4 Заключение

При изучении механизмов анксиолитического действия соединения-лидера в тестах *in vitro* установлено, что вещество ДАБ-21 является низкоактивным блокатором NMDA- и AMPA-рецепторов. Данные подтверждают ранее полученные результаты прогноза активности изучаемого класса соединений. Для вещества показана отсутствие влияния на кальциевые каналы L-типа, а также на 5-НТ-_{2A}-β-аррестинный сигналинг.

5.4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были изучены механизмы анксиолитического действия двух производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола - 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола гидробромида (ДАБ-19) и 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2а]бензимидазола дигидрохлорида (ДАБ-21).

Первый этап содержал прогнозные методы оценки, после которого был определен приоритетный пул механизмов действия. Использованы методы максимального сходства к эталонам для определения эффектов базовой структуры diaзепино[1,2-а]бензимидазола, а затем химические структуры соединений-лидеров оценены в системе PASS online. Итоговый спектр эффектов наиболее вероятных механизмов реализации противотревожного действия включал изучение влияния на ГАМК-ергическую, серотонинергическую, глутаматергическую, адренергическую и холинергическую системы. Учитывая важность участия дофамина в реализации множества процессов в ЦНС, изучение влияния на дофаминергические эффекты также были включены в перечень исследования.

Результаты проведенного исследования приведены в таблице 5.13.

Можно выделить следующие спектры механизмов анксиолитического действия исследуемых веществ:

ДАБ-19 – неконкурентный блокатор потенциал-зависимых NMDA-рецепторов, аллостерический модулятор кальций-непроницаемых и кальций-проницаемых AMPA-рецепторов, положительный аллостерический модулятор бензодiazеинового сайта ГАМК-рецептора (комбинация субъединиц $\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$), усиливает эффекты 5-гидрокситриптофана, обладает слабым α -адренергическим действием, потенциально ингибирует дофамин- β -гидроксилазу, а также умеренно блокирует кальциевые каналы L-типа;

ДАБ-21 – положительный аллостерический модулятор бензодiazеинового сайта ГАМК-рецептора (комбинация субъединиц $\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$), потенцирование серотонинергических эффектов опосредуемых через 5-HT₂-серотониновые

рецепторы, умеренное α_2 -адреноблокирующее действие, слабое глутаматергическое действие, возможное МАО-ингибирующее действие и влияние на обратный захват моноаминов.

Таблица 5.13 – Механизмы действия соединений ДАБ-19 и ДАБ-21

Регистрируемый параметр	Зарегистрированный эффект	
	ДАБ-19	ДАБ-21
Глутаматергическая система		
NMDA	100% антагонизм	27% антагонизм
Кальций-проницаемые AMPA	100% антагонизм	отсутствие
Кальций-непроницаемые AMPA	100% антагонизм	15% антагонизм
ГАМК-ергическая система		
Пикротоксиновые судороги	отсутствие	отсутствие
Анксиолитический эффект при введении антагониста бензодиазепинового (флумазенила)	↓	↓
Холинергическая система		
Тремор и судороги, обусловленные никотином	отсутствие	отсутствие
Ареколиновый тремор	отсутствие	отсутствие
Адренергическая система		
Клофелиновая гипотермия	слабое повышение	слабое повышение
Резерпиновая гипотермия	отсутствие	отсутствие
Дофаминергическая система		
Галоперидоловая каталепсия	↓	слабое ↓
Апоморфиновая стереотипия	отсутствие	отсутствие
Стереотипия, обусловленная L-ДОФА	отсутствие	↑
Серотонинергическая система		
5-гидрокситриптофановый гиперкинез	↑	↑
Бета-аррестинный путь	отсутствие	отсутствие
Кальциевые каналы L-типа		
Кальциевые каналы L-типа	↓	отсутствие

Примечание: эффект: «↓» - снижен, «↑» - повышен, «отсутствие» - отсутствие влияния соединения на исследуемые показатели в тесте в сравнении с контрольными значениями.

ГЛАВА 6. ОЦЕНКА БЕЗВРЕДНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 11H-[1,3]ДИАЗЕПИНО[1,2-A]БЕНЗИМИДАЗОЛА

Для соединений с высокой анксиолитической активностью под шифрами ДАБ-19 и ДАБ-21 были спрогнозированы фармакокинетические и токсические параметры с помощью системы ADMET, определена острая токсичность при внутрижелудочном введении, оценен нейротоксикологический профиль в тесте по S.Irwin, исследован потенциал к вторичной аддикции в тесте «Условная реакция предпочтения места», а также изучена способность соединений влиять на мышечный тонус животных с использованием батареи миорелаксационных тестов.

6.1 Оценка токсичности соединения ДАБ-19

6.1.1 Оценка перспективности изучения соединения в системе прогноза ADMET

Для соединения под лабораторным шифром ДАБ-19 средняя степень связывания с белками плазмы крови по результатам ADMET прогноза составила 89%. Хорошая всасываемость в ЖКТ (83%) является положительным фактором для перорального приема соединения. Высокая степень проницаемости гематоэнцефалического барьера (97%) для соединения ДАБ-19 подтверждается его психоактивным потенциалом. Рассчитанная средняя летальная доза для соединения ДАБ-19 составляет 30 мг/кг, что позволяет предварительно отнести соединение ко 2 классу токсичности. Вещество характеризуется равномерным объемом распределения, отсутствием предпосылок к проявлению канцерогенности, гепато-, иммуно-, цитотоксичности, а также мутагенности, что, вне всякого сомнения, является сильной стороной для кандидата в лекарственные средства.

Наиболее вероятными метаболическими путями для биотрансформации соединения ДАБ-19 является ингибирование цитохромов CYP2D6, CYP2C19 и CYP1A2, а также соединение может являться субстратом для CYP3A4, CYP2C19 и CYP1A2. Примером препарата, сочетающего в себе свойства субстрата и ингибитора цитохрома CYP2C19, является моклобемид – препарат из группы

обратимых ингибиторов MAO-A [Gram et al., 1995], применяющийся преимущественно для лечения депрессии и социофобии [Nutt et al., 1996; Bonnet, 2003]. Среди непсихотропных препаратов с подобным действием можно выделить индометацин и ингибиторы протонной помпы (лансопризол, пантопризол, эзомепризол и др.) [Macías et al., 2021; El Rouby et al., 2018]. Флувоксамин, антидепрессант группы СИОЗС, характеризуется влиянием на CYP1A2 как в качестве ингибитора, так и субстрата [Guo et al., 2021], вместе с кофеином [Barreto et al., 2021], зилеутоном [Lu et al., 2003], верапамилом [Fuhr et al., 1992] и другими препаратами. Свойства субстрата цитохрома CYP3A4, большей частью локализуемого в печени и кишечнике, – общая характеристика для большинства лекарственных средств, в том числе влияющих на ЦНС – галоперидол, мirtазапин, циталопрам, производные бензодиазепаина (клоназепам, диазепам, мидазолам) и многие другие [Schelleman et al., 2011; Akamine et al., 2012]. Среди ингибиторов CYP2D6 – множество психотропных лекарственных средств – пароксетин, сертралин, галоперидол, моклобемид, кломипрамин [Samer et al., 2013; Seripa et al., 2017].

6.1.2 Оценка острой токсичности соединения

Для исследования острой токсичности изучаемое соединение под шифром ДАБ-19 вводили мышам (n=6) внутрижелудочно в дозах 100, 125, 175 и 200 мг/кг. Оценивали выживаемость животных за 14-дневный период. По результатам исследования, среднелетальная доза (LD₅₀) определена на уровне 150,2 мг/кг, что меньше, чем у диазепама - 700⁸ мг/кг при внутрижелудочном введении мышам. Полученный показатель позволяет отнести соединение ДАБ-19 ко 2 классу токсичности, что совпадает с данными прогноза ADMET, проведенного ранее. В то же время, по уровню среднелетальной дозы соединение ДАБ-19 является безопаснее в 5 раз по сравнению с прогнозом (рисунок 6.1).

⁸Значение LD₅₀ препарата сравнения диазепама получено из литературного источника INCHEM <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/pim181.htm>

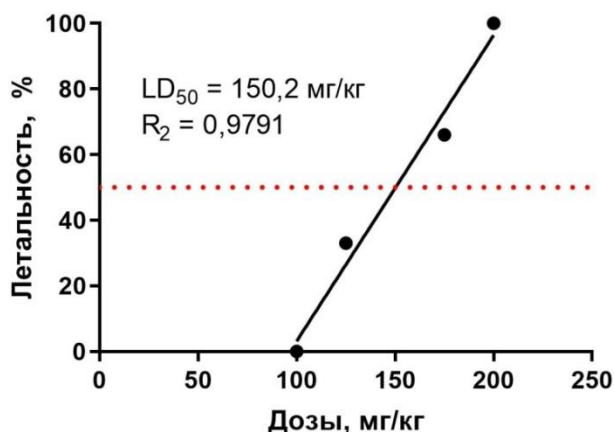


Рисунок 6.1 – Средняя смертельная доза (LD_{50}) ДАБ-19 при однократном внутрижелудочном введении, мыши

6.1.3 Нейротоксикологические параметры соединения

Исследование общефармакологических эффектов соединения ДАБ-19 проводили в эффективной дозе для проявления анксиолитического действия 2,9 мг/кг, а также превышающей таковую в 10 (29 мг/кг) и 40 раз (116 мг/кг). Дальнейшее повышение дозы приводит к превышению рассчитанной LD_{50} соединения (150,2 мг/кг), в связи с чем признано нецелесообразным. В дозах, равных ED_{50} (2,9 мг/кг) и превышающих ее в 10 раз (29 мг/кг), не было зарегистрировано изменений функционально-поведенческого статуса животных по всем параметрам тестирования. В дозе 116 мг/кг ($ED_{50} \times 40$) отмечали небольшое увеличение параметров вокализации, настороженности, беспокойства, спонтанной активности, а также реакций на прикосновение, боль и стук. В то же время, отмечали снижение числа актов груминга, небольшой птоз верхнего века мышей и уменьшение размера зрачка. Отмеченные изменения статистически незначительно отличались от группы контроля. Соединение ДАБ-19 в диапазоне доз не вызывает стереотипию и приступы агрессии животных, не влияет на тремор, судороги, тонус конечностей, а также саливацию, уринацию, дефекацию, температуру тела и цвет кожи (ушей и хвостов) мышей. По результатам исследования, соединение ДАБ-19 может быть признано безопасным в диапазоне доз 2,9-116 мг/кг в тесте по S.Irwin (таблица А.16).

6.1.4 Аддиктивный потенциал соединения в тесте УРПМ

В тесте «Условная реакция предпочтения места» препарат сравнения диазепам в дозе 1 мг/кг при введении мышам проявил выраженный аддиктивный потенциал, отмеченный в статистически значимом отличии показателей цветного отсека от серого в экспериментальной группе мышей. Под влиянием соединения ДАБ-19 в дозах 2,9 и 29 мг/кг не было зарегистрировано проявления вторичной аддикции опытных животных (рисунок 6.2).

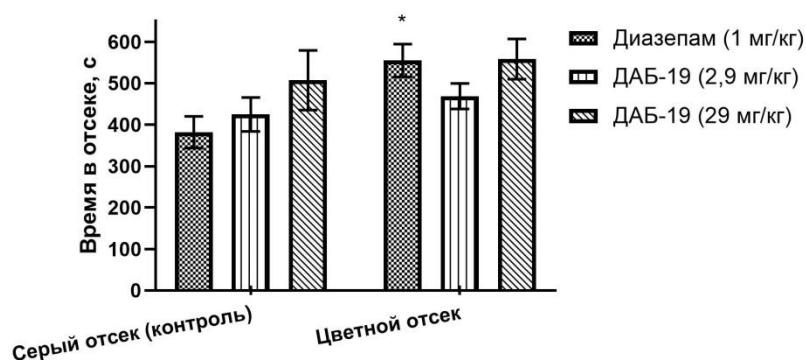


Рисунок 6.2 - Влияние соединения ДАБ-19 (2,9 и 29 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на развитие аддикции у мышей в тесте «Условная реакция предпочтения места», $M \pm m$. Примечание: * - данные достоверны по отношению к группе контроля ($p < 0,05$, критерий Вилкоксона, критерий Манна-Уитни)

6.1.5 Заключение

Таким образом, соединение ДАБ-19 по итогам изучения острой токсичности на мышьях-самцах можно отнести ко 2 классу токсичности с уровнем средней смертельной дозы 150,2 мг/кг. Изучение нейротоксикологических параметров соединения в тесте по S. Irwin показало, что соединение практически не влияет на неврологический и поведенческий статусы животных. В условиях теста «Условная реакция предпочтения места» для соединения не показано потенциала к вторичной аддикции. Отсутствие предпосылок к проявлению канцерогенности, гепато-, иммуно-, цитотоксичности, а также мутагенности в условиях методики ADMET позволяет оценить соединение как безопасное для дальнейших исследований.

6.2 Оценка токсичности соединения ДАБ-21

6.2.1 Оценка перспективности изучения соединения в системе прогноза

ADMET

Соединение под лабораторным шифром ДАБ-21 может быть охарактеризовано высокой степенью всасываемости в ЖКТ – 70%. Изучаемое соединение характеризуется максимально возможным уровнем проницаемости через ГЭБ по шкале от 0 до 1,0 (1,0). Согласно данным об объеме распределения соединения ДАБ-21, оно обладает высокой липофильностью, и, вероятно, хорошо связывается с белками и липидами тканей организма. Для соединения ДАБ-21 характерно отсутствие канцерогенности, мутагенности, а также гепато-, иммуно- и цитотоксических свойств.

Для изучаемых соединений показан различный профиль метаболических трансформаций. Так, соединение ДАБ-21 является субстратом и ингибитором CYP2D6, а также субстратом для CYP3A4, CYP2C19 и CYP1A2. Цитохром CYP2D6 является преимущественным путем метаболизации большинства психотропных препаратов [Samer et al., 2013; Seripa et al., 2017], в том числе диазепама [Ono et al., 1996; Yang et al., 1999]. В то же время, существуют и препараты, сочетающие свойства как субстрата, так и ингибитора указанного фермента, среди которых антидепрессанты флуоксетин и миртазапин [Irrázaval et al., 2016; Jeong et al., 2021; Okubo et al., 2015; Fawcett J. et al., 1998], а также антипсихотические средства - перфеназин, зуклопентиксол, хлорпромазин [Plesnicar. et al., 2008; Schillevoort et al., 2002; Suzuki et al., 2001]. Субстратом для CYP2C19 являются трициклические антидепрессанты кломипрамин, амитриптилин, моклобемид, бупропион [de Leon et al., 2006], а также диазепам и группа ингибиторов протоновой помпы [Ono et al., 1996; El Rouby et al., 2018; Masimirembwa et al., 1995]. Для CYP1A2 субстратами также являются кофеин [Barreto et al., 2021], галоперидол [Hanagama et al., 2008], атипичный антидепрессант - агонист мелатониновых рецепторов агомелатин [Howland et al., 2011], а также антидепрессант группы СИОЗСН дулоксетин [Lobo et al., 2021].

6.2.2 Оценка острой токсичности соединения

Для исследования острой токсичности изучаемое соединение под шифром ДАБ-21 вводили мышам ($n=6$) внутривенно в дозах 500, 750, 1000 и 1250 мг/кг. По результатам исследования, среднелетальная доза (LD_{50}) для соединения ДАБ-21 определена на уровне 863,4 мг/кг. Таким образом, изучаемое соединение является менее токсичным, чем препарат сравнения диазепам (700 мг/кг). Полученный показатель позволяет отнести соединение ДАБ-21 к 3 классу токсичности, что более благоприятно по сравнению с данными прогноза ADMET, где был показан 2 класс токсичности (рисунок 6.3).

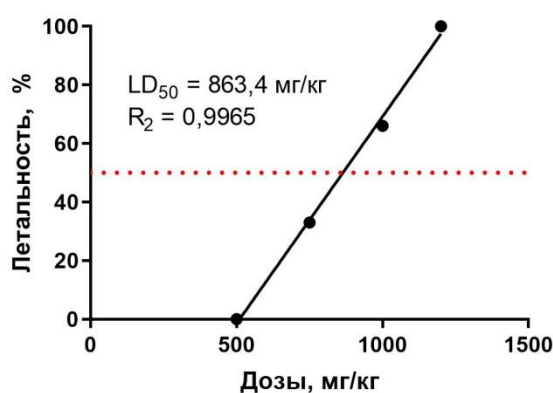


Рисунок 6.3 – Средняя смертельная доза (LD_{50}) ДАБ-21 при однократном внутривенном введении, мыши

6.2.3 Нейротоксикологические параметры соединения

При исследовании нейротоксикологических характеристик соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, а также в дозах, превышающих таковую в 10 (12,6 мг/кг), 100 (126 мг/кг) и 500 (630 мг/кг) раз было показано, что в дозах 1,26 и 12,6 мг/кг соединение является полностью безопасным и не оказывает влияния на изучаемые показатели. При повышении дозы до 126 мг/кг отмечено, что на 60-й минуте исследования у животных незначительно повышалась спонтанная вокализация, уровень настороженности, беспокойства и двигательной активности, а также небольшое повышение нервно-мышечной возбудимости. Указанные эффекты сохранялись и на 120-й минуте эксперимента. В более высокой дозе – 630 мг/кг – отмечены, в дополнение к описанным эффектам в дозе 126 мг/кг, снижение актов груминга, более выраженная пассивность животных, а также

увеличение вокализации и уровня беспокойства. При исследовании в высоких дозах – 126 и 630 мг/кг – показано некоторое нарушение вегетативных функций мышей – сужение зрачка и небольшой птоз века, учащение уриаций и снижение температуры тела. Не отмечено актов агрессии, стереотипии, нарушения координации и судорожных приступов во всех исследованных дозах. Указанные изменения функционально-поведенческого статуса являются незначительными и для них не показано значимое отличие с группой контроля. По результатам проведенного тестирования соединения ДАБ-21 можно признать безопасным в широком диапазоне доз (таблица А.17).

6.2.4 Аддиктивный потенциал соединения в тесте УРПМ

Аддиктивный потенциал соединения ДАБ-21 был исследован в условиях методики «Условная реакция предпочтения места». Показано, что для соединения ДАБ-21 как в дозе 63 мг/кг, так и в дозе 126 мг/кг, не выявлено искомым свойств, в отличие от препарата сравнения диазепама. Полученные данные сходны с таковыми для соединения ДАБ-19 (рисунок 6.4).

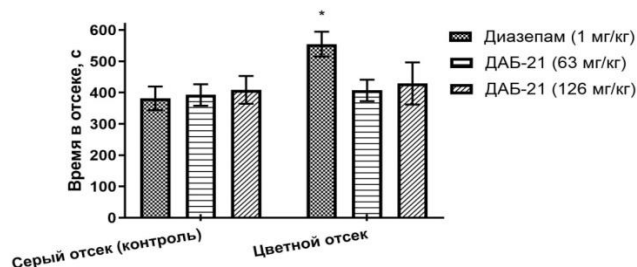


Рисунок 6.4 - Влияние соединения ДАБ-21 (63 и 126 мг/кг, в/ж) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на развитие вторичной аддикции у мышей в тесте «Условная реакция предпочтения места», $M \pm m$. Примечание: * - данные достоверны по отношению к группе контроля ($p < 0,05$, критерий Вилкоксона, критерий Манна-Уитни)

6.2.5 Заключение

По результатам проведенных исследований величина средней смертельной дозы для соединения ДАБ-21 составила 863,4 мг/кг (3 класс токсичности). Нейротоксикологические показатели соединения в тесте по S. Irwin не были существенно изменены в сравнении с контрольными значениями. Также соединение ДАБ-21 не вызывает вторичной аддикции у животных. Отсутствие предпосылок к проявлению канцерогенности, гепато-, иммуно-, цитотоксичности,

а также мутагенности в условиях методики ADMET позволяет оценить соединение как безопасное для дальнейших исследований.

6.3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам выполненного ADMET прогноза, соединения ДАБ-19 и ДАБ-21 могут характеризоваться равномерным объемом распределения, отсутствием предпосылок к проявлению канцерогенности, гепато-, иммуно-, цитотоксичности, а также мутагенности. LD₅₀ для изучаемых соединений была рассчитана на уровне 150,2 мг/кг для ДАБ-19 и 863,4 мг/кг для ДАБ-21, что позволяет отнести вещества ко 2 и 3 классам токсичности, соответственно. При исследовании соединений в многопараметровом тесте по S.Irwin выявлено, что оба соединения являются безопасными и не влияют значительно на показатели функционально-поведенческого статуса животных. В то же время, диапазон исследованных доз для ДАБ-19 был менее широк, чем для ДАБ-21, что объясняется более высокой токсичностью вещества ДАБ-19. Не отмечено аддиктивного потенциала для соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 в условиях теста «Условная реакция предпочтения места» в сравнении с диазепамом.

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время отмечается усугубление ситуации с распространением психических расстройств. Так, по данным ВОЗ, в 2015 году около 970 миллионов людей страдали расстройствами ментальной сферы, в основном были отмечены тревожные и депрессивные расстройства, а за 2020 год эта цифра возросла на 26-28%. Тревожными расстройствами в 2019 году страдал 301 млн человек, а в 2020 - около 390 млн.

Страх является естественной реакцией организма на негативное внешнее воздействие. Однако такой механизм может иметь патологический характер развития и манифестировать в качестве тревожного расстройства [Tafet et al., 2020]. В международной классификации болезней нарушения, связанные с тревогой и стрессом, представлены достаточно широко и относятся к невротическим нарушениям, связанным со стрессом и соматоформными расстройствами. При рассмотрении ментальных расстройств, основанных на стрессе, выделяют фобические тревожные расстройства (F40), другие тревожные расстройства (F41), обсессивно-компульсивное нарушение (F42), реакцию на тяжелый стресс и нарушения адаптации (F43), диссоциативные (конверсионные) расстройства (F44) и другие невротические расстройства (F48). К указанной классификации можно так же отнести соматоформные нарушения (F45). Однако стоит уточнить, что указанная классификация подвергается достаточно частым коррекциям, когда те или иные нарушения включаются, либо исключаются. Вопрос перехода на МКБ-11 в Российской Федерации на текущий момент приостановлен из-за проблем с программным обеспечением, поэтому информация о новой системе классификации болезней не является актуальной. Примером достаточно серьезной коррекции является обособление посттравматического стрессового расстройства и обсессивно-компульсивного расстройства в отдельные главы в новейшем издании Диагностического и статистического руководства по психическим расстройствам (DSM-5) и готовящейся к публикации МКБ-11 [Kogan et al., 2016; Reed et al., 2019]. В большинстве публикаций тревожные расстройства все также классифицируют на 5 типов: тревожное

расстройство (generalized anxiety disorder, GAD), фобии, социальное тревожное расстройство (social anxiety disorder, SAD), посттравматическое стрессовое расстройство (post-traumatic stress disorder, PTSD), паническое расстройство (panic disorder, PD) с/без агорафобии и обсессивно-компульсивное расстройство (obsessive-compulsive disorder, OCD). На долю лиц с ментальными расстройствами, нуждающихся в систематической помощи, в России приходится 8–10% населения, а число наиболее тяжелых пациентов составляет ~3–6% [Незнанов с соавт. 2017]. Так, наиболее часто в клинической практике встречаются генерализованное тревожное расстройство, посттравматическое стрессовое расстройство, паническое расстройство, обсессивно-компульсивное расстройство, социальные фобии и тревожно-депрессивные расстройство [Вознесенская, 2013].

Отмечается, что существующие препараты первой линии имеют значительное количество недостатков, что приводит к необходимости поиска новых средств. В то же время, наблюдаются некоторые проблемы с созданием новых средств для лечения тревожных расстройств. К примеру, с 2006-2007 годов после подтверждения возможности применения прегабалина и дулоксетина для лечения генерализованного тревожного расстройства, не было официально зарегистрировано ни одного лекарственного препарата для лечения указанных патологий [Singewald, 2019]. На 2019 год на 2 и 3 стадиях клинических исследований находилось 37 лекарственных средств. В частности, для лечения генерализованного тревожного расстройства проходили испытания 3 вещества в III фазе и 7 веществ во II фазе. Тем не менее, на 2023 год ни одно из 3 веществ не появилось на фармацевтическом рынке в качестве препарата для лечения тревожных расстройств. В 2022 каннабидиол был не одобрен ВОЗ. Трорилузол не достиг целей, поставленных перед ним [Silk et al., 2022; Wiah et al., 2023]. Вилазодон в настоящее время зарегистрирован как антидепрессант для лечения депрессивных эпизодов тяжёлой степени без психотических симптомов, более известной по американской классификации DSM-5 как большое депрессивное

расстройство, и имеет ряд серьезных ограничений, в том числе, повышение риска самоубийства [Chauhan et al., 2022].

Значительное внимание было уделено выбору классов химических соединений для проведения фармакологического скрининга с целью поиска потенциально активных веществ. Выбранный подход, основанный на концепции изостеризма соединений, позволил оценить не только различные формы изостеризации уже существующих лекарственных препаратов, но и других перспективных привилегированных скаффолдов. Примером такого выбора могут служить производные бензодиазепина: у используемых в клинической практике лекарственных препаратов, таких как диазепам, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин, клоназепам, атом азота локализован в положениях 1 и 4, в то время, как у изучаемой в данной работе базовой структуры атом азота находится в положениях 2 и 3. Отдельно стоит отметить оптимизацию уже используемых в клинической практике химических структур с анксиолитической активностью, такой подход подразумевает использование идеи изостеризма. Таким примером служит фабомотизол, производное бензимидазола, широко применяемое в практике для коррекции легких форм тревожно-депрессивного расстройства. Полученные в результате экспериментального скрининга данные подтвердили корректность выбранного подхода, поскольку более 75% всех производных 5*H*-2,3-бензодиазепина проявляли сходную с изостерами фармакологическую активность.

Дальнейшая оптимизация предполагала совмещение сразу нескольких подходов, используемых при создании новых соединений: уже указанную выше модель изостеризма (рисунок 8.1); использование привилегированных подклассов химических структур; а также совмещение этих привилегированных молекул. В результате была получена уникальная химическая группа – производные диазепино[1,2-а]бензимидазола (рисунок 8.2), которая тоже подвергалась различным оптимизациям с формированием тетрациклической структуры из трициклической молекулы (триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума).

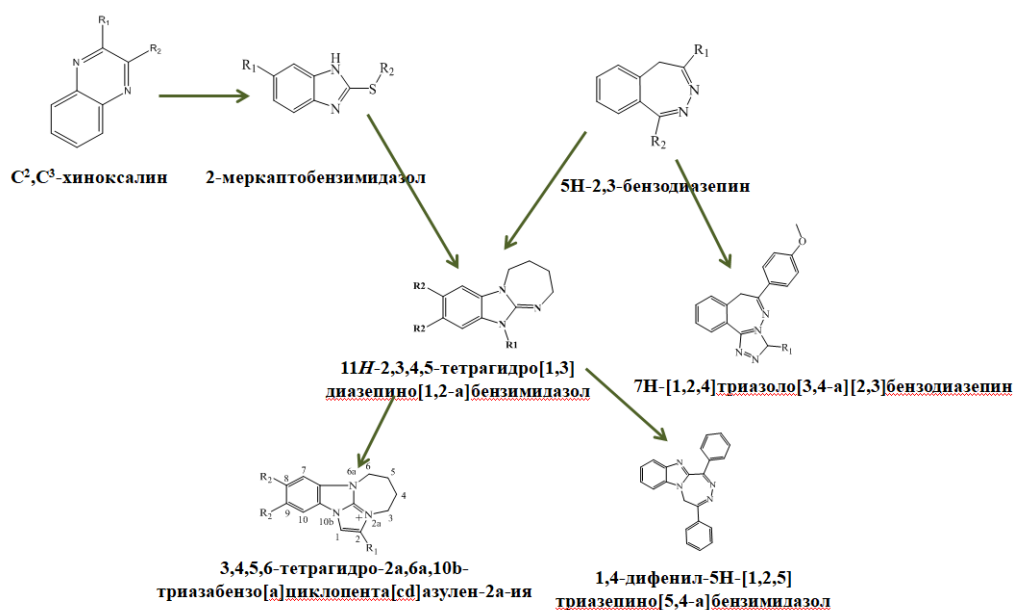


Рисунок 8.1 – Общая схема изостеров бензимидазола и бензодиазепина и их производных

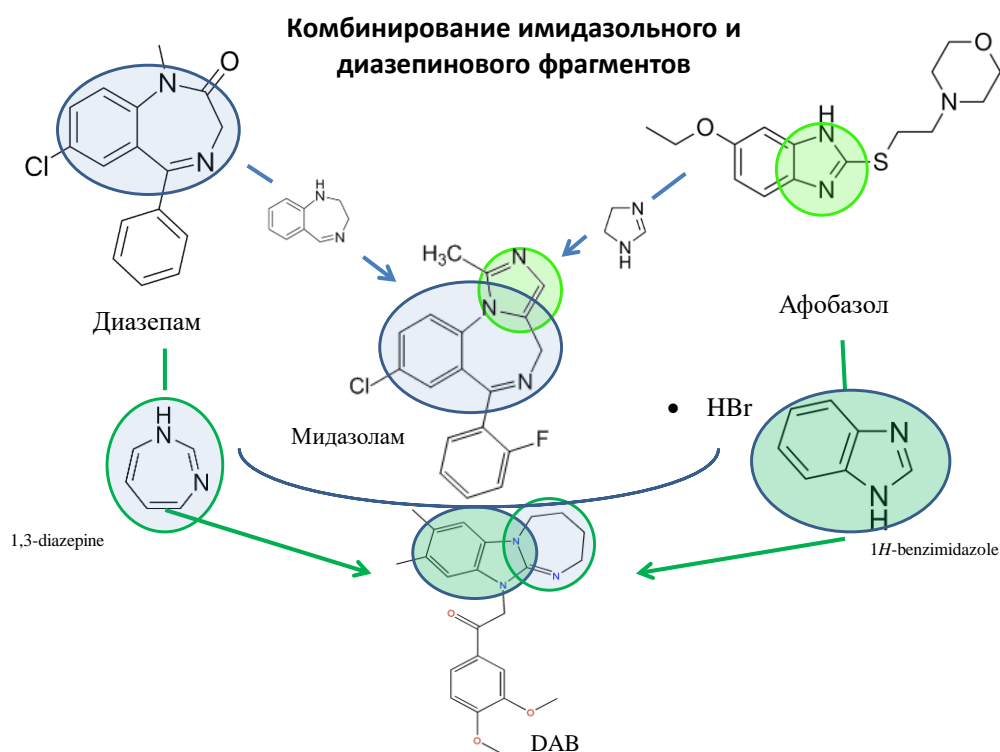


Рисунок 8.2 – Комбинирование имидазольного и диазепинового фрагментов

На первом этапе исследования был проведён *in silico* прогноз перспективности изучения ряда изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов с применением тест-системы PASS. Было проанализировано 81 соединение, относящееся к различным химическим классам:

11*H*-[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазолы; 2-алкилтиобензимидазолы; 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепины; 5*H*-2,3-бензодиазепины; 1,4-бензодиазины (хиноксалины); 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иумы; [1,2,5]триазепины. В критерии предсказания были включены анксиолитический и антифобический эффекты веществ. Было показано, что данные классы соединений являются перспективными с точки зрения поиска на их основе высокоэффективных соединений с противотревожными свойствами. Такие результаты подтверждают возможность биоизостерного поиска среди изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных. Избранный подход предварительного анализа с использованием методов *in silico* используется для определения перспективных направлений поиска веществ с анксиолитической активностью. Так, в 2022 году были представлены результаты по изостеризации бензодиазепинов в имидазодиазепины [Golani et al., 2022]. В 2016 году были опубликованы материалы, в которых исследователи из США и Австрии в коллаборации с фармацевтической компанией «Eli Lilly and company» показали высокий уровень сходства в проявляемой активности между производными диазепамы и имидазо[1,5-а][1,4]дiazепин-3-ил-оксазола [Poe et al., 2016]. Приведенные примеры не являются единственными и демонстрируют современные тенденции в направленном поиске противотревожных средств, для этих примеров также характерно, что изостеры тестировались на «классические» для бензодиазепинов мишени, ГАМК_A-рецепторные комплексы.

Методами сетевой фармакологии (network pharmacology [Li et al., 2021; Tang et al., 2021]) был сформирован список биомишеней, наиболее значимых для формирования анксиолитической активности изучаемых изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов для построения и обучения нейросети с целью поиска с ее помощью соединений с высокой анксиолитической активностью [Li et al., 2022].

Результаты *in silico* прогноза были проверены *in vivo* в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». Тест «Приподнятого крестообразного

лабиринта» является одним из классических для измерения тревожного поведения у грызунов [Komada et al., 2008; Воронина и др., 2012]. Его можно также использовать для получения информации о таких состояниях, как посттравматическое стрессовое расстройство и других состояниях, характеризующихся тревожным поведением, а также в качестве компонента при скрининге новых соединений на анксиолитические свойства [Kraeuter et al., 2019]. Эта модель основана на страхе грызунов перед открытым пространством, а также боязни падения с высоты [Таран и др., 2017]. Схожий принцип лежит в основе «Открытого поля», где характерным поведением для грызунов является избегание «опасных» мест - освещенного центра установки. У грызунов вынужденная конфронтация с новой обстановкой вызывает стресс [Misslin et al., 1986], обуславливающий тревожное поведение, как и у людей.

Следует отметить, что нормальная и патологическая тревога имеют различную феноменологию и обусловлены весьма отличающимися механизмами [Belzung et al., 2001]. Интересно, что, хотя в клинической практике препаратами первой линии для лечения тревожных расстройств являются СИОЗС, но классические доклинические тесты для оценки уровня тревожности грызунов – «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле» валидированы с использованием, как правило, бензодиазепиновых анксиолитиков [Bespalov et al., 2021], и, таким образом, нечувствительны к антидепрессантам при различных схемах введения [Borsini et al., 2002]. Согласно гипотезе Thiébot с соавт., по крайней мере, некоторые эффекты бензодиазепинов в анксиолитических тестах можно объяснить их способностью стимулировать импульсивный выбор [Thiébot et al., 1985].

Отмечено, что триазолопиридазины, такие как алпразолам или адиназолам, вызывают эффекты, сильно отличающиеся от эффектов классических агонистов бензодиазепиновых рецепторов в «Открытом поле»: примерно в 1/3 исследований сообщается о присутствии анксиолитического эффекта, в 1/3 – об отсутствии эффекта и в 1/3 – об анксиогенном действии [Prut et al., 2003]. Более того, «Открытое поле» не чувствительно к алпразоламу и хроническому введению

СИОЗС, а также к эффектам частичных и селективных агонистов бензодиазефина, эффективным при паническом и обсессивно-компульсивном расстройствах, социальных фобиях и посттравматическом стрессовом расстройстве [Uhlenhuth et al., 1989; Westenberg, 1996]. Фактически, тест чувствителен только к анксиолитическим эффектам, вызываемым классическими бензодиазепинами и агонистами 5-HT_{1A}-рецепторов [Prut et al., 2003]. Следовательно, можно предположить, что «Открытое поле» может быть либо моделью «нормальной» тревоги, с которой сталкивается каждый человек в стрессовой или угрожающей ситуации, но не с чертами патологической тревоги, либо, наоборот, моделью поведенческих эффектов классических бензодиазепинов и агонистов 5-HT_{1A}-рецепторов. В то же самое время, указанные тесты являются одними из наиболее часто используемых для оценки анксиолитического действия новых соединений.

При более детальном изучении полученных результатов можно отметить, что среди всех изученных соединений наиболее перспективным классом с позиции поиска «активные/неактивные» соединения можно выделить производные 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазефина - до 88% активных субстанций. В то же время ни одна из субстанций по уровню противотревожного эффекта не превосходила диазепам. Сходным образом можно выделить производные 5H-2,3-бензодиазефина (75% активных соединений). Только для производных диазепино[1,2-а]бензимидазола обнаружены соединения с высоким уровнем анксиолитического действия, превосходящие диазепам. Однако соотношение «активные/неактивные» составляло для них 54%. Наличие высокоактивных субстанций, многочисленная база синтезированных и протестированных соединений повлияло на определение перспективности изучаемых классов. Наименее перспективным классом для дальнейшего поиска соединений с противотревожным действием из изученных выше были производные 1,4-бензодиазина (хиноксалины), где только около 20% соединений проявили атарактический эффект (таблица 8.1).

Таблица 8.1 - Сводные данные по перспективности изучения класса

Уровень перспективности класса	Наименование	Количество умеренно активных субстанций	Количество активных субстанций	Количество высоко активных субстанций
1	11 <i>H</i> -2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол	10/38 (26%)	9/38 (23%)	2/38 (5%)
2	1,4-дифенил-5 <i>H</i> -[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазол	0	1/1 (100%)	0
3	7 <i>H</i> -[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин	4/9 (44%)	4/9 (44%)	0
4	5 <i>H</i> -2,3-бензодиазепин	2/4 (50%)	1/4 (25%)	0
5	2-меркаптобензимидазол	3/8 (37%)	3/8 (37%)	0
6	3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-ия	1/6 (17%)	1/6 (17%)	0
7	C ² ,C ³ -хиноксалин	1/15 (7%)	2/15 (13%)	0

Таким образом, в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» было изучено 81 соединение. Для 57% веществ показано анксиолитическое действие различной степени выраженности. Полученные результаты подтверждают корректность выбранного подхода использования изостерных аналогов. В основу эмпирического анализа полученных данных легли относительные уровни анксиолитического эффекта, сопряженные с уровнем проявляемой активности у препаратов сравнения: неактивные, умеренноактивные, активные и высокоактивные соединений. Два соединения из группы производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола (ДАБ-19 и ДАБ-21) продемонстрировали эффект, соответствующий высокоактивным соединениям, это составило практически 6% от всего количества протестированных производных дiazеино[1,2-а]бензимидазола или 2,5% от всего пула исследованных соединений.

Наиболее выраженную анксиолитическую активность, статистически достоверно превосходящую показатели дiazепама ($p < 0,05$), проявило соединение под шифром ДАБ-19, содержащее 4-*трет*-бутилфенильный фрагмент в

положении R₁ diazepино[1,2-а]бензимидазольного скаффолда (рисунок 3.15). Можно отметить, что дополнение линкерной части атомом кислорода в структурах молекул ДАБ-26 и ДАБ-45 приводило к снижению уровня противотревожной активности указанных соединений. Более того, дополнительная метильная группа в R₂ положении, отличающая структуру соединения ДАБ-33 от ДАБ-45, приводила к еще большему убыванию искомой активности. Присутствие в положении 11 метильной или ацетильной группировки (ДАБ-1 и ДАБ-35) не приводило к выраженному противотревожному эффекту соответствующих субстанций. Достаточно высокую активность на уровне диазепама проявили соединения, содержащие в структуре *трет*-бутилацил (ДАБ-7) или 2-(2,2-диэтиламино)этил (ДАБ-20).

Вторым наиболее высокоактивным соединением стала субстанция под шифром ДАБ-21 с 2-пирролидиноэтильным радикалом в положении 11. Возможно, наличие насыщенного азотсодержащего гетероцикла повышает анксиолитический потенциал соединений в случае пирролидинового (ДАБ-21) либо морфолиноэтильного (ДАБ-23) строения при условии отсутствия заместителей в положениях 8 и 9. В случае наличия метильных групп в указанных положениях (соединения ДАБ-34 и ДАБ-38) уровень анксиолитического действия соединений падал ниже контрольных значений. При замене пирролидина (ДАБ-21) на пиперидин (ДАБ-22) выраженность противотревожного действия соединений также значительно убывала. Вероятно, наличие более плоской пятичленной пирролидиновой структуры является более благоприятным фактором проявления искомой активности, нежели шестичленный пиперидин, характеризующийся большим числом стерических конформаций.

Сравнительный анализ структур изучаемых производных азотсодержащих конденсированных гетероциклов позволил выявить основные хемотипы: diazepинобензимидазол, хиноксалин, бензоимидазопиразин, меркаптобензимидазол, бензодиазепин. Совокупно по всем исследованным хемотипам и каждой из 92 релевантных анксиолитических биомишеней, методом структурного сходства с использованием ПО Microcosm 7.2 [Vassiliev et al., 2014]

и Microcosm BioS 20.6.6 [Vasilyev et al., 2019] были вычислены 15468 средних оценок уровня таргетной активности.

Идентификация фармакофоров анксиолитической активности впервые была проведена на основе решения обратной задачи анализа предварительно построенной QSAR-модели. При этом используемая консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных изученным хемотипам, также была построена впервые. Впервые было выполнено построение монотаргетных фармакофоров, определяющих аффинность соединений к наиболее важным биомишеням анксиолитической активности по отдельности. Характерно, что ни один из построенных фармакофоров не включает целиком всю конденсированную гетероциклическую систему. Взаимодействие обеспечивается различными фармакофорными фрагментами скаффолдов, а также их заместителей. Таким образом, посредством решения обратной задачи, на основе анализа консенсусной ансамблевой мультитаргетной нейросетевой модели анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных изостерическим хемотипам, были выявлены четыре значимые биомишени и построены мультитаргетные фармакофоры высокой активности, характеризующие общие особенности взаимодействия 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов и [1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепинов с адреналиновыми α_{1b} и α_{2a} , ангиотензиновыми AT_1 и глутаматергическими NMDA-рецепторами.

Сформированная консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений и построенные на ее основе монотаргетные и мультитаргетные фармакофоры используются в направленном поиске новых изостеров бензодиазепинового и бензимидазолового скаффолдов с высокой анксиолитической активностью.

Таким образом, подводя итоги первого этапа исследования, было установлено, что статистически значимая противотревожная активность производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола, а также их структурных аналогов, свидетельствует об обнаружении нового перспективного класса

химических соединений. Учитывая особенности химической структуры диазеино[1,2-а]бензимидазола, можно утверждать о перспективности комбинирования привилегированных подструктур и использовании изостерических замен как подходов при синтезе и создании новых классов химических соединений. Выявлены новые высокоактивные соединения под шифрами ДАБ-19 и ДАБ-21, являющиеся перспективными для изучения их психофармакологического профиля и исследования их потенциала как кандидатов в лекарственные вещества с анксиолитической активностью.

На втором этапе исследования более детально была изучена нейрорепрессивная активность производных 11*H*-[1,3]диазеино[1,2-а]бензимидазола - соединений ДАБ-19 и ДАБ-21. По результатам изучения зависимости величины наблюдаемого действия от введенной мышам дозы соединения ДАБ-19 показано, что наиболее эффективной дозой для проявления анксиолитического действия вещества является 2,9 мг/кг, тогда как для соединения ДАБ-21 эффективная доза составила 1,26 мг/кг. Как правило, снижение применяемой дозы вещества прямо коррелирует со снижением его токсических свойств [Wang et al., 2019]. Вместе с тем, в литературных данных описан «парадоксальный эффект», согласно которому биологическое действие вещества в средних дозах может уступать таковому в малых дозах [Герасименко и др., 2010]. С практической точки зрения исследование проблемы малых и сверхмалых доз представляется важной задачей [Kuypers et al., 2020], решение которой может привести к уточнению взглядов на токсичность химических соединений, к изменению подходов к применению лекарственных препаратов и открытию новых направлений их создания. Анализируя полученные экспериментальные данные, можно предположить применение невысоких доз исследуемых соединений для достижения значимого фармакологического действия.

При исследовании зависимости эффектов соединений от времени их введения животным под влиянием вещества ДАБ-19 уровень противотревожного эффекта был отчетливо выражен уже через 30 минут после введения мышам,

после чего выходил на «плато» и убывал, а через 12 часов после введения наблюдаемые параметры соответствовали контрольным значениям. Для соединения ДАБ-21 уровень противотревожного эффекта был выражен уже через 30 минут после введения и длился около 8 часов. Таким образом, длительность действия соединения ДАБ-19 можно предварительно охарактеризовать как короткую, а соединение ДАБ-21 обладает средней продолжительностью эффекта, уступающую диазепаму. Согласно рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [Воронина и др., 2012], для верификации анксиолитического действия новых препаратов необходимо не менее трех доклинических тестов с обязательным включением конфликтной парадигмы. В связи с этим, анксиолитическое действие веществ ДАБ-19 и ДАБ-21 было подтверждено в условиях методик «Темная/светлая камера», «Наказуемое взятие воды по Vogel», «Тревожно-фобическое состояние». В условиях теста «Открытое поле» была отмечена стимуляция горизонтальной и вертикальной двигательной активности мышей под влиянием соединения ДАБ-19, и только горизонтальных перемещений под действием вещества ДАБ-21 (таблица 8.2). Как правило, результаты теста «Открытое поле» корректно рассматривать в совокупности с данными других поведенческих тестов [Nakagawa et al., 2020].

В процессе изучения влияния новых соединений на отдельные поведенческие компоненты было выявлено благоприятное действие соединения ДАБ-19 на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интродер» (таблица 2), выраженное в сниженных показателях агрессивного поведения, а для вещества ДАБ-21 – и с сохранением коммуникативного потенциала. Уровень когнитивных функций и условно-рефлекторной деятельности крыс под влиянием веществ ДАБ-19 и ДАБ-21 в условиях методики «Тест экстраполяционного избегания» соответствовали контрольным значениям.

По данным параметрам исследуемые соединения выгодно отличаются от их структурного аналога и препарата сравнения диазепамы, вызвавшего заторможенность реакции грызунов. При длительном 14-дневном введении было сохранено анксиолитическое действие соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 в тесте

«Приподнятый крестообразный лабиринт». Для ДАБ-19 было сохранено стимулирование двигательной активности грызунов в «Открытом поле», а для соединения ДАБ-21 - антидепрессивное действие в тесте «Принудительного плавания по Porsolt». На модели хронического непредсказуемого легкого стресса противотревожный эффект соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 не уступал уровню флуоксетина в дозе 10 мг/кг, проявившего наиболее выраженное действие в условиях данного теста.

Таблица 8.2 – Сравнение профилей противотревожной активности соединений ДАБ-19, ДАБ-21 и диазепама

№	Характеристика	ДАБ-19	ДАБ-21	Диазепам
Скрининговое исследование				
Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»				
1	Время пребывания в открытом рукаве (с)	120,8±10,35	114,7±8,70	69,2±7,20
2	Количество выходов в открытый рукав	3,0±0,73	4,0±0,44	3,2±0,60
3	Зависимость анксиолитической активности соединения от дозы (мг/кг)	0,1-4,0	0,001-4,0	0,1-4
4	Длительность противотревожной активности (ч)	4-6	12	24
Изучение анксиолитической активности				
5	Тест «Открытое поле»	+	+	+
6	Тест «Темная/светлая камера»	+	++	+
7	Тест «Наказуемое взятие воды по Vogel»	+	+	+
8	Тест «Тревожно-фобическое состояние»	+	+	+
Антифобическое действие				
9	Тест «Закапывание шариков»	+	+	+
Длительное 14-дневное введение				
10	Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»	+	+	+
11	Тест «Открытое поле»	+	+	+

Примечание: эффект: «+» - присутствует, «-» - отсутствует

Выраженный антидепрессивный эффект соединения ДАБ-21 был отмечен как в условиях теста «Подвешивание за хвост», так и «Принудительного плавания по Porsolt», не уступая уровню препаратов сравнения amitriptilina и imipramina, в то время как для соединения ДАБ-19 весьма умеренный антидепрессивный эффект был отмечен в условиях теста «Подвешивание за хвост», но не «Принудительного плавания по Porsolt». Одним из наиболее важных отличий указанных методик является различная реакция на препараты и более высокая чувствительность теста «Подвешивание за хвост». Тест

«Принудительного плавания» на мышах традиционно не рассматривался как стабильно чувствительная модель для определения активности СИОЗС [Porsolt et al., 1992], тогда как эти антидепрессанты, как правило, считаются активными при проведении «Подвешивания за хвост». Согласно данным литературы, процедурные изменения и лучший отбор линий животных могут повысить чувствительность обнаружения СИОЗС в тесте по Porsolt [Cryan et al., 2002; Lucki et al., 2001]. Напротив, другие атипичные агенты, такие как ролипрам и левопротилин, снижают время иммобилизации при «Принудительном плавании», но неактивны при «Подвешивании за хвост» [Porsolt et al., 1992]. Было показано, что, в то время как введение антагониста или генетический нокаут ГАМК_B-рецептора приводит к антидепрессантоподобному эффекту при «Принудительном плавании», при «Подвешивании за хвост» данный эффект не наблюдался [Mombereau et al., 2004].

Еще одним отличием тестов является их различная чувствительность к антидепрессантам, снижающим двигательную активность животных. Кроме того, характер кривых доза-эффект может существенно различаться между обеими процедурами [Cryan et al., 2005]. Зачастую соединения имеют двухфазный ответ в поведенчески значимых дозах в «Принудительном плавании» [Porsolt et al., 1977; Bai et al., 2001; Harkin et al., 1999; Li et al., 2001], в то время как эта картина относительно редко встречается при «Подвешивании за хвост». Показательным примером является демонстрация того, что антидепрессант имипрамин имеет U-образную кривую доза-эффект в «Принудительном плавании», тогда как линейный характер активности наблюдается в «Подвешивании за хвост» в том же диапазоне доз [Bai et al., 2001].

Не стоит забывать, что более корректной является оценка антидепрессивной активности новых соединений в совокупности с тестами на двигательную активность, такие как «Открытое поле», «Актометр» [Morrell et al., 1988] и другие для исключения ложного антидепрессивного действия ввиду стимуляции физической активности грызунов [Strekalova et al., 2022]. Таким образом, эффект соединения ДАБ-19 является скорее ложным антидепрессивным ввиду

повышенных относительно контроля параметров соединения в «Актометре», а также стимуляции локомоторной активности в «Открытом поле», сохраняющейся и при 14-дневном введении вещества, и убыванием эффекта в «Принудительном плавании» при длительном введении. В то же время, хотя соединение ДАБ-21 также увеличивало число передвижений в «Открытом поле», но в условиях «Актометра» число двигательных актов соответствует контролю, а при двухнедельном введении в «Принудительном плавании» антидепрессивное действие сохраняется. Можно отметить, что эффекты соединения ДАБ-21 весьма схожи с препаратом сравнения тофизопамом, также содержащим в структуре бензодиазепиновый фрагмент [Yücel et al., 2022]. Полученные данные позволяют предположить возможное применение соединения ДАБ-21, подобно тофизопаму, в качестве «дневного анксиолитика» со стимулирующим действием.

Различные фармакологические агенты могут служить для формирования различных моделей эпилепсии, например фампридиновая модель клонико-тонических судорог, коразоловые судороги как модель абсанса и пилокарпиновая модель эпилептического статуса [Islas-Espinoza et al., 2018]. Как известно, методика «Коразоловых судорог» основана на ГАМК-ергическом воздействии на ЦНС пентилентетразола и моделирует «малые припадки» [Shimada et al., 2018]. Для бензодиазепинов характерны выраженные противосудорожные свойства в тесте «Коразоловые судороги», что связано с его ГАМК-миметическим действием [Dhaliwal et al., 2021]. В отличие от описанного, тест «Максимального электрошока» является моделью первично-генерализованной эпилепсии, моделирующей «большие» судорожные припадки. Наибольшую активность в данном тесте проявляют соединения, модулирующие/блокирующие потенциал-зависимые натриевые каналы [Xiang et al., 2019]. При изучении противосудорожного действия соединений с высокой противотревожной активностью выраженный эффект зарегистрирован как в тесте «Максимального электрошока», так и «Коразоловых судорог» для соединения ДАБ-19, а для ДАБ-21 – только в «Коразоловых судорогах».

Таблица 8.3 – Нейропсихотропный профиль соединений ДАБ-19, ДАБ-21 и диазепама

№	Характеристика	ДАБ-19	ДАБ-21	Диазепам
Антидепрессивная активность				
1	Тест «Принудительное плавание по Porsolt»	-	+	-
2	Тест «Подвешивание за хвост»	+	+	-
Противосудорожная активность				
3	Тест «Максимальный электрошок»	+	-	-
4	Тест «Коразоловые судороги»	+	-	+
Гипногенное действие				
5	Тест «Гексеналовый сон»	-	-	+
Анальгетическое действие				
6	Тест «Отдергивание хвоста»	-	-	-
7	Тест «Горячая пластина»	-	+	-
Зоосоциальное поведение («Резидент-интродуер»)				
8.1	Агрессивное поведение	↓	↓	↓
8.2	Защитное поведение	↓	↓	-
8.3	Индивидуальное поведение	-	-	↓
8.4	Коммуникативное поведение	-	-	-
Влияние на когнитивные функции				
9	Тест «Острая эвристическая ситуация»	-	-	↓
Длительное 14-дневное введение				
10	Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»	+	+	+
11	Тест «Открытое поле»	+	+	+
12	Тест «Принудительное плавание по Porsolt»	-	+	-
13	Методика хронического непредсказуемого легкого стресса	+	+	+
Батарея миорелаксационных тестов				
14	Число движений а тесте «Актометр»	↑	-	↓
15	Удержание на проволоке	-	-	-
16	Удержание на сетке	-	-	-
17	Удержание на вращающемся стержне в тесте «Ротарод»	-	-	↓

Примечание: эффект: «+» - присутствует, «-» - отсутствует, «↓» - снижен, «↑» - повышен

В связи с этим, можно предположить различную механизацию действия для соединений ДАБ-19 и ДАБ-21. Не отмечено гипногенного влияния для обоих веществ, что может быть связано с наличием бензимидазольного фрагмента молекул соединений ДАБ-19 и ДАБ-21, отличающих их структуру от препарата сравнения диазепама.

Экспериментальные модели ноцицепции включают пороговые реакции на стимулы высокой интенсивности (острые болевые тесты – «Горячая пластина» и «Отдергивание хвоста») и изменения спонтанных или индуцированных поведенческих реакций у животных с периферическим повреждением или воспалением (модели стойкой боли – «Формалиновая гипералгезия») [Karna et al., 2019]. В дополнение к этим болевым тестам существуют модели для изучения изменений термических и механических порогов, возникающих после повреждения периферического нерва (нейропатическая боль) [Gunn et al., 2011]. Имеются данные о том, что нейротрансмиттеры и нейромодуляторы, опосредующие болевые реакции в каждой из этих моделей, могут различаться [Vannon et al., 2007]. В результате разные фармакологические агенты могут быть эффективными для ослабления боли в различных моделях (таблица 8.3).

В рамках данного исследования изучались эффекты веществ только при моделировании острой боли. При изучении анальгетического действия соединений для вещества ДАБ-21 эффект был зарегистрирован в тесте «Горячей пластины», но не «Отдергивания хвоста», в то время как соединение ДАБ-19 не проявило обезболивающего действия в обоих проведенных тестах. Можно предположить наличие супраспинального механизма ноцицепции для соединения ДАБ-21 [Миронов, 2012]; в то же время, снижение болевого порога животных в данном случае может быть обусловлено и анксиолитическим действием соединения.

Таким образом, можно выделить основные эффекты для соединений:

ДАБ-21 – выраженные анксиолитический и антидепрессивный эффекты, антиагрессивное действие и возможная анальгетическая активность;

ДАБ-19 – выраженные анксиолитический и противосудорожный эффекты, антиагрессивное действие и возможная психостимулирующая активность.

На третьем этапе исследований была проведена оценка возможных механизмов действия соединений ДАБ-21 и ДАБ-19. Так, предварительно был выполнен прогноз спектра таргетной активности веществ с использованием методов сетевой фармакологии. В начале методом максимального сходства к эталонам базовой структуры диазепино[1,2-а]бензимидазола с применением ПО Microcosm BioS [Строганова и др., 2019], а затем химические структуры соединений лидеров оценены в системе PASS online. Были спрогнозированы основные паттерны механизации действия, а именно влияние на ГАМК-ергическую, серотонинергическую, глутаматергическую, адренергическую и холинергическую системы, в перечень исследования были также включены возможные дофаминергические эффекты. Указанные нейромедиаторные системы были взяты за основу для формирования пула тестов в рамках определения пути реализации эффектов изучаемых соединений.

В результате проведенного фармакологического анализа показан аллостерический модулирующий эффект соединения ДАБ-19 на ГАМК-ергическое звено, через бензодиазепиновый сайт связывания. Учитывая прогнозную активность, весьма вероятно воздействие на ГАМК $\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$ рецепторы, а именно на локализованные рядом субъединицы α_1 и γ_2 [Johnston, 1996]. Отмечается отсутствие прямых влияний на транспорт ионов хлора в тесте пикротоксиновые судороги. Такой эффект ожидаем для производных 11H-[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола, как для структурных аналогов производных бензодиазепина, в том числе, и препарата сравнения диазепам. Серотонинергическое и дофаминергическое действие характерно для многих соединений с анксиолитической активностью [Zangrossi et al., 2014; Zarrindast et al., 2015; Xia et al., 2021; Nguyen et al., 2021]. Влияние соединения ДАБ-21 на эффекты 5-гидрокситриптофана согласуются с прогнозной оценкой, полученной методом максимального сходства к эталонам, в то же время, отсутствие выраженного и устойчивого антидепрессивного действия соединения, в

регуляции которого принимает участие 5-гидрокситриптофан [Maffei, 2020; Kahn et al., 1985], вызывает некоторые сомнения в прямой регуляции 5-HT₂-рецепторов. Тем не менее, способность модулировать эффекты 5-гидрокситриптофана подтверждает выраженный потенциал соединения ДАБ-19 как вещества с анксиолитической активностью и его вовлеченностью в регуляцию серотонинергической нейротрансмиссии. Спрогнозированные в PASS online холинергические влияния не подтвердились. Сходным является эффект вещества на адренергическую систему, хотя стоит отметить, что влияние соединения на вызванную клофелином гипотермию несколько превосходят эффекты негативного контроля, но достоверно уступают показателям интактной группы. Данный факт либо характеризует соединение ДАБ-19 как слабый α_2 -блокатор, либо сопряжен с влиянием вещества на метаболизм моноаминов. В вызванной галоперидолом каталепсии экспериментальное соединение снижало выраженность каталепсии, что, скорее всего, связано с изменением синтеза норадреналина из дофамина. Так, при определении влияния соединения ДАБ-19 на содержание моноаминов и их метаболитов в головном мозге мышей было показано, что соединение может влиять на метаболизацию дофамина, преимущественным путем превращения которого становится образование 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты под действием альдегиддегидрогеназы и моноаминоксидазы, а также показано возможное ингибирующее влияние соединения ДАБ-19 на дофамин- β -гидроксилазу.

Как известно, у дофамина есть три основных метаболических пути трансформации [Ramirez et al., 2014]. Первый – образование ДОФУК с помощью моноаминоксидазы (МАО) и последующая трансформация ДОФУК до гомованилиновой кислоты (ГВК) с помощью катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ) [Robbins et al., 2003; Volkow et al., 2009]. Второй – образование 3-метокситирамина под действием КОМТ и далее ГВК с помощью МАО [Gray et al., 1997; Sanders et al., 2020]. Третий путь - превращение в норадреналин с помощью фермента дофамин- β -гидроксилазы [Graves et al., 2020]. Под действием соединения ДАБ-19 дофамин практически не переходил в норадреналин, что

может косвенно свидетельствовать о влиянии соединения ДАБ-19 на дофамин- β -гидроксилазу. Напротив, образование ДОФУК было значительно увеличено даже в сравнении с интактным контролем, а сравнительно высокий уровень самого дофамина позволяет предположить достаточно небольшой процент образования 3-метокситирамина. Исходя из изложенного, соединение ДАБ-19 может влиять на метаболизацию дофамина, преимущественным путем превращения которого становится образование 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты под действием альдегиддегидрогеназы и моноаминоксидазы (рисунок 8.3).

В литературных данных отмечено, что флуоксетин при 14-дневном введении увеличивает экспрессию D_1 -дофаминергического рецептора в зрелых гранулярных клетках зубчатой извилины мышей, лиганды которого действуют как основной медиатор действия антидепрессантов в условиях данной методики [Shuto et al., 2020]. Затем повышенная D_1 -дофаминергическая импульсация усиливает действие флуоксетина при длительном введении - подавление массивного выброса серотонина, вызванного стрессом, стимуляция нейрогенеза у взрослых и нормотимическое действие. Исходя из изложенного дофаминомиметического действия флуоксетина, снижение концентрации дофамина в этой группе может быть связано с повышенным образованием метаболита ДОФУК.

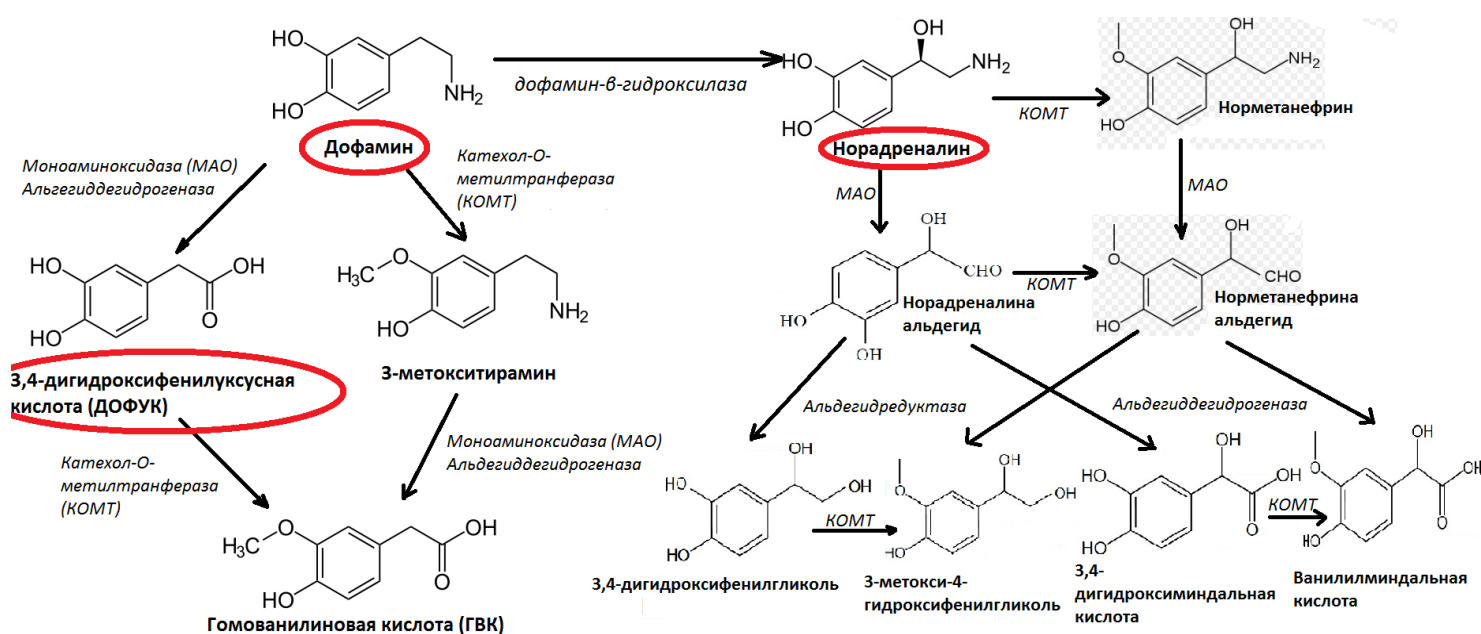


Рисунок 8.3 – Метаболические пути дофамина и норадреналина

Недавно было показано, что соединение метилжасмонат при введении крысам вызывает противотревожный эффект в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», который блокируется нифедипином [Nemati et al., 2021]. Обнаружено, что соединение ДАБ-19 в дозах 10 и 20 мкмоль способно подавлять КС1-индуцированные сокращения изолированной подвздошной кишки крыс *in vitro* путем блокирования кальциевых каналов L-типа, что позволяет предположить влияние соединения ДАБ-19 не только в пределах ЦНС, но и на периферические мишени [Little, 2021]. В рамках прогнозной оценки одним из наиболее вероятных эффектов было представлено NMDA-глутаматергическое влияние. В экспериментальной работе *in vitro* было установлено, что соединение ДАБ-19 влияет не только на NMDA-рецепторы, но и блокирует AMPA-рецепторы. При этом вещество способно регулировать как кальций-непроницаемые AMPA-рецепторы, так и кальций-проницаемые AMPA-рецепторы. При углубленном изучении глутаматергического действия соединения ДАБ-19 определены способы антагонистического действия. Так, на NMDA-рецепторы вещество влияет как неконкурентный потенциал-зависимый блокатор пор канала, в то время как связывание соединения ДАБ-19 с кальций-непроницаемым AMPA-рецептором носит характер аллостерической модификации рецептора. Кальций-проницаемое AMPA-рецепторное взаимодействие с веществом осуществляется сразу двумя механизмами: блокада поры канала и аллостерическая модификация рецептора. В клинической практике не существует лекарственных средств, являющихся низкоселективными высокоспецифичными антагонистами глутаматных ионотропных каналов, что свидетельствует о перспективах применения ДАБ-19 как потенциально нового лекарственного средства.

Для изучаемого соединения под шифром ДАБ-21 одним из наиболее выраженных было взаимодействие с блокатором бензодиазепинового сайта ГАМК-рецепторов – флумазенилом. Анксиолитические эффекты вещества в эффективной дозе практически полностью подавлялись. Учитывая спрогнозированный ГАМК-ергический потенциал в отношении модификаций

рецепторов (содержащих α_1 , β_x , и γ_2 субъединицы) был сделан вывод о наличии у соединения ДАБ-21 положительной аллостерической модуляции ГАМК-рецепторов, реализованное через бензодиазепиновый участок связывания. В тесте клофелиновой гипотермии показано возможное α_2 -блокирующее свойство вещества, эффект согласуется с результатами прогноза. Интересным является влияние соединения ДАБ-21 на дофаминовую систему: показано потенцирование веществом эффектов L-ДОФА и снижение выраженности галоперидоловой каталепсии. В обоих случаях действие соединения не сохраняется на протяжении всего эксперимента. В эксперименте с предшественником дофамина, вещество усиливает его в низких дозах, что характерно для ингибиторов моноаминоксидазы, которые повышают синтез и высвобождение дофамина и серотонина [Krishna et al., 2014]. Тест галоперидоловой каталепсии используется для выявления дофаминомиметического действия [Миронов, 2012; Chokhawala et al., 2023], но для него характерно широкое влияние на дофаминовую, норадренергическую, холинергическую и гистаминергическую системы [Gao et al., 2023]. Выраженным является влияние на серотонин в тесте 5-гидрокситриптофанового гиперкинеза. Соединение ДАБ-21 потенцирует эффекты 5-гидрокситриптофана. При этом профиль соотношения метаболита к нейромедиатору (5-ОИУК/серотонин и ДОФУК/дофамин) идентичен с таковым для флуоксетина. Это позволяет предполагать серотонинергический путь механизмов реализации эффектов соединения и принадлежность активной субстанции к группе селективных ингибиторов обратного захвата серотонина. Однако профиль проявляемых эффектов согласуется и с эффектами пирлиндола. Пирлиндол является ингибитором моноаминоксидазы, а вторичный механизм действия связан с ингибированием обратного захвата норадреналина и 5-гидрокситриптамина, отмечается наличие α_2 -адреноблокирующего и серотонинергического действия [Bruhwylер et al., 1997]. Соединение ДАБ-21 в дозе 0,1 мкМ блокирует NMDA- и AMPA-рецепторы на 27 и 15%, а в дозах 10 и 20 мкМ не влияет на KCl-индуцированные сокращения изолированной подвздошной кишки крыс *in vitro* (таблица 8.4).

Таблица 8.4 – Сравнительный анализ механизмов действия соединений ДАБ-19 и ДАБ-21

Регистрируемый параметр	Зарегистрированный эффект	
	ДАБ-19	ДАБ-21
Глутаматергическая система		
NMDA	100% антагонизм	27% антагонизм
Кальций-проницаемые AMPA	100% антагонизм	отсутствие
Кальций-непроницаемые AMPA	100% антагонизм	15% антагонизм
ГАМК-ергическая система		
Пикротоксиновые судороги	отсутствие	отсутствие
Анксиолитический эффект при введении антагониста бензодиазепинового (флумазенила)	↓	↓
Холинергическая система		
Тремор и судороги, обусловленные никотином	отсутствие	отсутствие
Ареколиновый тремор	отсутствие	отсутствие
Адренергическая система		
Клофелиновая гипотермия	слабое повышение	слабое повышение
Резерпиновая гипотермия	отсутствие	отсутствие
Дофаминергическая система		
Галоперидоловая каталепсия	↓	слабое ↓
Апоморфиновая стереотипия	отсутствие	отсутствие
Стереотипия, обусловленная L-ДОФА	отсутствие	↑
Серотонинергическая система		
5-гидрокситриптофановый гиперкинез	↑	↑
Бета-аррестинный путь	отсутствие	отсутствие
Кальциевые каналы L-типа		
Кальциевые каналы L-типа	↓	отсутствие

Примечание: эффект: «↓» - снижен, «↑» - повышен, «отсутствие» - отсутствие влияния соединения на исследуемые показатели в тесте в сравнении с контрольными значениями.

Таким образом, на основании проведенных исследований, для исследованных соединений можно выделить следующие механизмы реализации анксиолитического действия:

ДАБ-19 – неконкурентный блокатор потенциал-зависимых NMDA-рецепторов, аллостерический модулятор кальций-непроницаемых и кальций-проницаемых AMPA-рецепторов, положительный аллостерический модулятор бензодиазепинового сайта ГАМК-рецептора (комбинация субъединиц $\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$), усиливает эффекты 5-гидрокситриптофана, обладает слабым α -адренергическим

действием, потенциально ингибирует дофамин- β -гидроксилазу, а также умеренно блокирует кальциевые каналы L-типа;

ДАБ-21 – положительный аллостерический модулятор бензодиазепинового сайта ГАМК-рецептора (комбинация субъединиц $\alpha_1/\beta_3/\gamma_2$), потенцирование серотонинергических эффектов опосредуемых через 5-HT₂-серотониновые рецепторы, умеренное α_2 -адреноблокирующее действие, слабое глутаматергическое действие (антагонист NMDA- и AMPA-рецепторов), возможное MAO-ингибирующее действие и влияние на обратный захват моноаминов.

На заключительном, четвертом этапе исследований была проведена оценка безвредности производных 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола ДАБ-19 и ДАБ-21. Для соединений были предсказаны фармакокинетические параметры с помощью системы ADMET, определена острая токсичность при внутрижелудочном введении, оценен нейротоксикологический профиль в тесте по S.Irwin, исследован потенциал ко вторичной аддикции в тесте «Условная реакция предпочтения места», а также изучена способность соединений влиять на мышечный тонус животных с использованием батареи миорелаксационных тестов.

По результатам выполненного ADMET прогноза [Banerjee et al., 2018; Daina et al., 2017; Pires et al., 2015; Chen et al., 2012; Dong et al., 2017], соединения ДАБ-19 и ДАБ-21 характеризуются равномерным объемом распределения, отсутствием предпосылок к проявлению канцерогенности, гепато-, иммуно-, цитотоксичности, а также мутагенности, что, вне всякого сомнения, является сильной стороной для кандидатов в лекарственные средства. LD₅₀ для изучаемых соединений была рассчитана на уровне 150,2 мг/кг для ДАБ-19 и 863,4 мг/кг для ДАБ-21, что позволяет отнести вещества ко 2 и 3 классам токсичности, соответственно. При исследовании соединений в многопараметровом тесте по S.Irwin выявлено, что оба соединения не влияют негативно на показатели функционально-поведенческого статуса животных. В то же время, диапазон исследованных доз для ДАБ-19 был менее широк, чем для ДАБ-21, что объясняется более высокой

острой токсичностью вещества ДАБ-19. Не отмечено аддиктивного потенциала для соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 в условиях теста «Условная реакция предпочтения места» в сравнении с диазепамом.

В настоящее время, в медицинской химии и фармакологии остро стоит вопрос о создании новых противотревожных препаратов. На текущий момент для поиска новых перспективных молекул используются различные методы. Изостеризм – как подход, является одним из наиболее перспективных [Brown, 2012]. Сам метод поиска за счет своей гибкости и простоты повышает результативность. Однако существуют и некоторые проблемы при его использовании, в частности, в подходе к модификации изостеров. Предложенный в текущем исследовании вариант совместил изостерическую замену некоторых фрагментов с другими технологиями улучшения, в частности, с оптимизацией за счет совмещения привилегированных классов химических структур.

По результатам проведенного исследования было проведено изучение изостеров бензодиазепаина и бензимидазола на анксиолитические свойства, найдены вещества с высокой анксиолитической активностью, определены их нейрорепродуктивные свойства и механизмы реализации противотревожного действия, а также изучены токсикологические свойства. Результаты настоящего исследования легли в основу построения нейросетевой модели поиска соединений с высоким противотревожным потенциалом. Найденные соединения ДАБ-19 и ДАБ-21 могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения спектра их фармакологических эффектов.

ВЫВОДЫ

1. Изостеры бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов обладают высоким противотревожным действием. По частоте выявления высокоактивных/активных/низкоактивных/неактивных соединений изучаемые классы веществ располагаются в следующем порядке: 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазолы > 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазепино[5,4-*a*]бензимидазолы > 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*a*][2,3]бензодиазепины > 5*H*-2,3-бензодиазепины > 2-меркаптобензимидазолы > 3,4,5,6-тетрагидро-2*a*,6*a*,10*b*-триазабензо[*a*]циклопента[*cd*]азулен-2*a*-иумы > C²,C³-хиноксалины.

2. 57% изученных веществ проявляют анксиолитическое действие различной степени выраженности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». 18 соединений не уступали по уровню противотревожной активности diaзепаму в дозе 1 мг/кг. Определены особенности химического строения заместителей, вносящих наибольший вклад в выраженность анксиолитического действия. Для производных diaзепино[1,2-*a*]бензимидазола таковым являлось присутствие пирролидинового или морфолиноэтильного фрагментов, бифенильный фрагмент в 75% случаев дает устойчивый анксиолитический потенциал изучаемой структуре. Линкерный участок, в частности, амидная группа, влияет на активность производных циклопента[*cd*]азуления.

3. Создана верифицированная база данных по структуре и уровню анксиолитической активности 663 экспериментально изученных известных химических соединений. Построена консенсусная ансамблевая мультитаргетная модель зависимости анксиолитической активности химических соединений от их энергий докинга для 17 релевантных биомишеней. Проведено обучение нейронной сети с высоким уровнем распознающей и прогностической способности, составляющей по данным ROC анализа 98.9%. Сформирована консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений и на ее основе построены

фармакофоры для направленного поиска новых соединений с высокой анксиолитической активностью.

4. 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолы – новый перспективный класс соединений, проявляющих анксиолитическую активность. Модификация 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола не приводит к утрате противотревожного потенциала на примере бифенильных производных 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола и 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума. Найдены новые высокоактивные анксиолитические соединения под шифрами ДАБ-19 и ДАБ-21.

5. Соединение ДАБ-19 (11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола гидробромид) проявляет устойчивые анксиолитический и противосудорожный эффекты, обладает антиагрессивным действием и оказывает психостимулирующее действие. Определена эффективная доза соединения ДАБ-19 на уровне 2,9 мг/кг.

6. Соединение ДАБ-19 является низкоселективным высокоспецифичным блокатором глутаматергических ионотропных рецепторов (конкурентным блокатором потенциал-зависимых NMDA-рецепторов, аллостерическим модулятором кальций-непроницаемых и кальций-проницаемых AMPA-рецепторов), оказывает положительное аллостерическое модулирующее действие на бензодiazеиновый сайт ГАМК_A рецептора, усиливает эффекты 5-гидрокситриптофана, обладает слабым α-адренергическим действием.

7. Соединение ДАБ-21 (11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2а]бензимидазола дигидрохлорид) оказывает выраженное анксиолитическое и антидепрессивное действия, для него характерны антиагрессивный и анальгетический эффекты. Определена эффективная доза соединения ДАБ-21 на уровне 1,26 мг/кг.

8. Соединение ДАБ-21 является аллостерическим модулятором бензодiazеинового сайта ГАМК_{α1/β3/γ2} рецептора, потенцирует серотонинергические эффекты, опосредуемые через 5-НТ₂ серотониновые рецепторы, характеризуется умеренным α₂-адреноблокирующим действием,

слабым глутаматергическим эффектом (блокированием NMDA- и AMPA-рецепторов).

9. Проведена оценка безвредности соединений ДАБ-19 и ДАБ-21. Для веществ характерно отсутствие критических токсических эффектов при проведении прогнозной оценки безвредности. Средняя летальная доза соединения ДАБ-19 была рассчитана на уровне 150,2 мг/кг (2 класс токсичности), а ДАБ-21 на уровне 863,4 мг/кг (3 класс токсичности). Показано, что вещества не влияют на показатели функционально-поведенческого статуса животных. Не отмечено аддиктивного потенциала для соединений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется проведение дальнейшего поиска соединений с высокой анксиолитической активностью среди изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов, в частности, производных 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола.
2. Выявленные особенности химического строения, влияющие на потенциал развития анксиолитической активности, представляется целесообразным использовать для направленного синтеза новых соединений с противотревожной активностью.
3. Целесообразно проведение полных доклинических исследований соединения с оригинальной антиглутаматергической активностью под шифром ДАБ-19, 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола гидробромида, сочетающего анксиолитические и противосудорожные свойства, а также блокирующим известные типы ионотропных глутаматергических рецепторов – NMDA-, кальций-непроницаемые и кальций-проницаемые AMPA-рецепторы.
4. Рекомендуется проведение полных доклинических исследований соединения с ГАМК- и серотонин-опосредованными анксиолитическими и антидепрессивными свойствами под шифром ДАБ-21, 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2а]бензимидазола дигидрохлорида.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

5-ОИУК – 5-оксииндолуксусная кислота

ADMET - absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicology –
всасывание, распределение, метаболизм, выделение, токсикология

L-ДОФА – L-диоксифенилаланин

ДОФУК – диоксифенилуксусная кислота

КОМТ – катехол-О-аминотрансфераза

МАО – моноаминооксидаза

МЭШ – максимальный электрошок

ОП – открытое поле

ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт

ТСК – темная/светлая камера

ТФС – тревожно-фобическое состояние

СИОЗС – селективный ингибитор обратного захвата серотонина

СИОЗСН – селективный ингибитор обратного захвата серотонина и
норадреналина

ХНЛС – хронический непредсказуемый легкий стресс

УРПМ – условная реакция предпочтения места

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 2-(4-substituted piperazin-1-yl)-1,8naphthyridine-3-carboxylic acids: Novel 5-HT₃ receptor antagonists with anxiolytic like activity in rodent behavioral models / Radhakrishnan Mahesh, Arghya Kusum Dhar, Ankur Jindal, Shvetank Bhatt // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 91, № 10. – P. 848-854.
2. 2-pyrazoline derivatives in neuropharmacology: Synthesis, ADME prediction, molecular docking and in vivo biological evaluation / Savita Upadhyay, Avinash C. Tripathi, Sarvesh Paliwal, Shailendra K. Saraf // *EXCLI journal.* – 2017. – Vol. 16. – P. 628-649.
3. 5-HT_{2A}-антагонистическая активность C₂,N₉-дизамещенных имидазо[1,2-а]бензимидазолов / Д. С. Яковлев, А. А. Спасов, Д. В. Мальцев [и др.] // Сборник трудов научно-практической конференции профессорско-преподавательского коллектива, посвященной 80-летию Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград, 10-14 сентября 2015 года. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2015. – С. 54-56.
4. A new piperazine derivative: 1-(4-(3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl) piperazin-1-yl)-2-methoxyethan-1-one with antioxidant and central activity / Adriane F. Brito, Patrícia C. C. S. Braga, Lorrane K. S. Moreira [et al.] // *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology.* – 2018. – Vol. 391, №. 3. – P. 255-269.
5. A novel PDE9 inhibitor WYQ-C36D ameliorates corticosterone-induced neurotoxicity and depression-like behaviors by cGMP-CREB-related signaling / Xian-Feng Huang, Wen-Tao Jiang, Li Liu [et al.] // *CNS Neurosci Ther.* – 2018. – Vol. 24, № 10. – P. 889-896.
6. A phase Ib dose-escalation study of troriluzole (BHV-4157), an oral glutamatergic signaling modulator, in combination with nivolumab in patients with advanced solid tumors / Ann W. Silk, Biren Saraiya, Roman Groisberg [et al.] // *Eur J Med Res.* – 2022. – Vol. 27, № 1. – P. 107.
7. A systematic review of reviews on the prevalence of anxiety disorders in adult populations / Olivia Remes, Carol Brayne, Rianne van der Linde, Louise Lafortune // *Brain Behav.* – 2016. – Vol. 6, № 7. – P. e00497.

8. Activation of the γ -Aminobutyric Acid Type B (GABA(B)) Receptor by Agonists and Positive Allosteric Modulators / Katie M. Brown, Kuldeep K. Roy, Gregory H. Hockerman [et al.] // *J Med Chem.* – 2015. – Vol. 58, № 16. – P. 6336-6347.
9. Activity of serotonin 5-HT_{1A} receptor biased agonists in rat: anxiolytic and antidepressant-like properties / Magdalena Jastrzębska-Więsek, Anna Partyka, Joanna Rychtyk [et al.] // *ACS chemical neuroscience.* – 2017. – Vol. 9, № 5. – P. 1040-1050.
10. Acute behavioral and Neurochemical Effects of Novel N-Benzyl-2-Phenylethylamine Derivatives in Adult Zebrafish / Konstantin A. Demin, Olga V. Kupriyanova, Vadim A. Shevyrin [et al.] // *ACS Chem Neurosci.* – 2022. – Vol. 13, № 13. – P. 1902-1922.
11. Acute serotonin 1B/1A receptor activation impairs behavioral flexibility in C57BL/6J mice / Brandon L. Oliver, McKenna H. Burdette, Alma E. Pahua [et al.] // *Behav Brain Res.* -2022. – Vol. 427. – P. 113865.
12. Acute treatment with a novel TRPC4/C5 channel inhibitor produces antidepressant and anxiolytic-like effects in mice / Li-Ping Yang, Fang-Jie Jiang, Gui-Sheng Wu [et al.] // *PloS one.* – 2015. – Vol. 10, № 8. – C. e0136255.
13. Adhikari, A., Acetamidobenzoxazolone scaffold as a promising translocator protein (18 kDa, TSPO) marker for neuroinflammation imaging: Advancement in last decennial period / Anupriya Adhikari, Ming-Rong Zhang, Anjani Kumar Tiwari // *Drug Dev Res.* 2022. – Vol. 83, № 7. – P. 1519-1533.
14. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database / Jie Dong, Ning-Ning Wang, Zhi-Jiang Yao [et al.] // *Journal of cheminformatics.* – 2018. – T. 10, № 1. – P. 29.
15. admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties / Feixiong Cheng, Weihua Li, Yadi Zhou [et al.] // *J Chem Inf Model.* – 2012. – Vol. 52, № 11. – P. 3099-3105.
16. AlphaFold : Protein Structure Database. – Text : electronic // EMBL-EBI. – URL: <https://alphafold.ebi.ac.uk> (accessed: 29.11.2021).
17. Analgesic action of intravenous diazepam / E. Kaufman, S. F. Dworkin, L. LeResche [et al.] // *Anesth Prog.* – 1984. – Vol. 31, № 2. – P. 70-73.

18. Anand, J. P. Multifunctional Opioid Ligands / Jessica P. Anand, Deanna Montgomery // *Handb Exp Pharmacol.* – 2018. – Vol. 247. – P. 21-51.
19. Anderson, G. Pathoetiology and pathophysiology of borderline personality: Role of prenatal factors, gut microbiome, mu- and kappa-opioid receptors in amygdala-PFC interactions / George Anderson // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* – 2020. – Vol. 98. – P. 109782.
20. Anderson, S. M. Anxiolytic-like and anxiogenic-like effects of nicotine are regulated via diverse action at β_2 *nicotinic acetylcholine receptors / S. M. Anderson, D. H. Brunzell // *British journal of pharmacology.* – 2015. – Vol. 172, №. 11. – P. 2864-2877.
21. Animal models of anxiety disorders and stress / Alline C. Campos, Manoela V. Fogaça, Daniele C. Aguiar, Francisco S. Guimarães // *Brazilian Journal of Psychiatry.* – 2013. – Vol. 35, № Suppl 2. – P. S101-S111.
22. Anti-anxiety effect of a novel 5-HT₃ receptor antagonist N-(benzo[d]thiazol-2-yl)-3-ethoxyquinoxalin-2-carboxamide (6k) using battery tests for anxiety in mice / Yeshwant Vijay Kurhe, Mahesh Radhakrishnan, Devadoss Thangaraj, Deepali Gupta // *Indian J Pharmacol.* – 2014. – Vol. 46, № 1. – P. 100-104.
23. Antidepressant-like actions of an AMPA receptor potentiator (LY392098) / X. Li, J. P. Tizzano, K. Griffey [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2001. – Vol. 40, № 8. – P. 1028-1033.
24. Antipsychotic-induced extrapyramidal side effects in bipolar disorder and schizophrenia: a systematic review / Keming Gao, David E. Kemp, Stephen J. Ganocy [et al.] // *J Clin Psychopharmacol.* – 2008. – Vol. 28, № 2. – P. 203-209.
25. Antipsychotic-induced extrapyramidal syndromes and cytochrome P450 2D6 genotype: a case-control study / Igor Schillevoort, Anthonius de Boer, Jan van der Weide [et al.] // *Pharmacogenetics.* – 2002. – Vol. 12, № 3. – P. 235-240.
26. Anxiety and depression – the role of blood-brain barrier integrity / Zsofia Gal, Robin J. Huse, Xenia Gonda [et al.] // *Neuropsychopharmacol Hung.* – 2019. – Vol. 21, № 1. – P. 19-25.

27. Anxiety and new onset of cardiovascular disease: critical review and meta-analysis / Neeltje M. Batelaan, Adrie Seldenrijk, Mariska Bot [et al.] // *Br J Psychiatry*. – 2016. – Vol. 208, № 3. – P. 223-231.
28. Anxiety and risk of incident coronary heart disease: a meta-analysis / Annelieke M. Roest, Elisabeth J. Martens, Peter de Jonge, Johan Denollet // *J Am Coll Cardiol*. – 2010. – Vol. 56, № 1. – P. 38-46.
29. Anxiolytic- and antidepressant-like activities of a methanolic extract of *Morinda citrifolia* Linn. (noni) fruit in mice: Involvement of benzodiazepine-GABAergic, serotonergic and adrenergic systems / Megala Narasingam, Kamini Vijeepallam, Zahurin Mohamed, Vijayapandi Pandey // *Biomed Pharmacother*. – 2017. – Vol. 96. – P. 944-952.
30. Anxiolytic and antidepressant-like activities of the novel and potent non-imidazole histamine H3 receptor antagonist ST-1283 / Amine Bahi, Johannes Stephan Schwed, Miriam Walter [et al.] // *Drug design, development and therapy*. – 2014. – Vol. 8. – P. 627-637.
31. Anxiolytic and Antidepressant-like Effects of Monoterpene Tetrahydrolinalool and In silico Approach of new Potential Targets / Pablo Rayff da Silva, Natalia Diniz NunesPazos, Thallita Karla Silva do Nascimento Gonzaga [et al.] // *Curr Top Med Chem*. – 2022. – Vol. 22, № 18. – P. 1530-1552.
32. Anxiolytic-like effect of 2-(4-((1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl) methyl) piperazin-1-yl) ethan-1-ol is mediated through the benzodiazepine and nicotinic pathways / Adriane F. Brito, James O. Fajemiroye, Hiasmin F. S. Neri [et al.] // *Chemical biology & drug design*. – 2017. – Vol. 90, № 3. – P. 432-442.
33. Anxiolytic-like effect of chalcone N-{4'[(2E)-3-(3-nitrophenyl)-1-(phenyl)prop-2-en-1-one]} acetamide on adult zebrafish (*Danio rerio*): Involvement of the 5-HT system / Maria Kueirislene Amâncio Ferreira, Antonio Wlisses da Silva, Francisca Crislândia Oliveira Silva [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2020. – Vol. 526, № 2. – P. 505-511.
34. Anxiolytic-like effects of the new arylpiperazine derivatives containing isonicotinic and picolinic nuclei: behavioral and biochemical studies / Ewa Kędzierska,

Ferdinando Fiorino, Ewa Gibuła [et al.] // *Fundam Clin Pharmacol.* – 2019. – Vol. 33, № 3. – P. 254-266.

35. Apomorphine for Parkinson's Disease: Efficacy and Safety of Current and New Formulations / Federico Carbone, Atbin Djamshidian, Klaus Seppi, Werner Poewe // *CNS Drug* – 2019. – Vol. 33, № 9. – P. 905-918.

36. Applications of CYP450 testing in the clinical setting / C. F. Samer, K. Ing Lorenzini, V. Rollason [et al.] // *Mol Diagn Ther.* -2013. – Vol. 17, № 3. – P. 165-184.

37. Applications of network pharmacology in traditional Chinese medicine research / Zhuchen Zhou, Bing Chen, Simiao Chen [et al.] // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 1646905

38. Ashton, H. Guidelines for the rational use of benzodiazepines. When and what to use / H. Ashton // *Drugs.* – 1994. – Vol. 48, № 1. – P. 25-40.

39. Auffret, M. Pharmacological insights into the use of apomorphine in parkinson's disease: clinical relevance / Manon Auffret, Sophie Drapier, Marc Vérin // *Clin Drug Investig.* – 2018. – Vol. 38, № 4. – P. 287-312.

40. Auffret, M. The Many Faces of Apomorphine: Lessons from the Past and Challenges for the Future / Manon Auffret, Sophie Drapier, Marc Vérin // *Drugs R D.* – 2018. – Vol. 18, № 2. – P. 91-107.

41. AutoDock Vina. – URL: <https://vina.scripps.edu> (accessed: 29.11.2021). – Text : electronic.

42. Azapirone 5-HT_{1A} receptor partial agonist treatment for major depressive disorder: systematic review and meta-analysis / T. Kishi, H. Y. Meltzer, Y. Matsuda, N. Iwata // *Psychol Med.* – 2014. – Vol. 44, № 11. – P. 2255-2269.

43. Baclofen treatment for chronic posttraumatic stress disorder / Roger G. Drake, Lori L. Davis, Marshall E. Cates [et al.] // *Ann Pharmacother.* – 2003. – Vol. 37, № 9. – P. 1177-1181.

44. Bahi, A. Dopamine transporter (DAT) knockdown in the nucleus accumbens improves anxiety-and depression-related behaviors in adult mice / Amine Bahi, Jean-Luc Dreyer // *Behav. Brain Res.* – 2018. – Vol. 359. – P. 104-115.

45. Bailey, K. R. Anxiety-related behaviors in mice / Kathleen R. Bailey, Jacqueline N. Crawley. – Text : electronic // *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience* / ed. Jerry J. Buccafusco. – 2nd ed. – Taylor & Francis, 2009. – Chapter 5. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5221> (accessed: 30/12/2023).
46. Barlow, D. H. Anxiety and its disorders: The nature and treatment of anxiety and panic / David H. Barlow. – 2nd ed. – New York : Guilford press, 2004. – 704 p. – ISBN 9781593850289.
47. Belzung, C. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review / C. Belzung, G. Griebel // *Behav. Brain Res.* – 2001. – Vol. 125, № 1-2. – P. 141-149.
48. Bioisosteres of ethyl 8-ethynyl-6-(pyridin-2-yl)-4H-benzo [f] imidazo [1, 5-a][1, 4] diazepine-3-carboxylate (HZ-166) as novel $\alpha_2, 3$ selective potentiators of GABAA receptors: improved bioavailability enhances anticonvulsant efficacy / J. M. Witkin, J. L. Smith, X. Ping [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2018. – Vol. 137. – P. 332-343.
49. Biological functions of α_2 -adrenergic-like octopamine receptor in *Drosophila melanogaster* / Hiroyuki Nakagawa, Shiori Maehara, Kazuhiko Kume [et al.] // *Genes Brain Behav.* – 2022. – Vol. 21, № 6. – P. e12807.
50. Biotransformation of 4-fluoro-N-(1-{2-[(propan-2-yl)phenoxy]ethyl}-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-yl)-benzenesulfonamide, a novel potent 5-HT₇ receptor antagonist with antidepressant-like and anxiolytic properties: In vitro and in silico approach / Karolina Słoczyńska, Katarzyna Wójcik-Pszczola, Vittorio Canale [et al.] // *J Biochem Mol Toxicol.* – 2018. – Vol. 32, № 5. – P. e22048.
51. Bohn, L. M. Serotonin receptor signaling and regulation via β -arrestins / Laura M. Bohn, Cullen L. Schmid // *Crit Rev Biochem Mol Biol.* – 2010. – Vol. 45, № 6. – P. 555-566.
52. Bonnet, U. Moclobemide: therapeutic use and clinical studies / Udo Bonnet // *CNS Drug Rev.* – 2003. – Vol. 9, № 1. – P. 97-140.

53. Borkar, N. Challenges and trends in apomorphine drug delivery systems for the treatment of Parkinson's disease / Nrupa Borkar, Huiling Mu, René Holm // *Asian J Pharm Sci.* – 2018. – Vol. 13, № 6. – P. 507-517.
54. Brown, N. Bioisosterism in medicinal chemistry / Nathan Brown. – Text : electronic // *Bioisosteres in medicinal chemistry.* – Wiley VCH, 2012. – P. 1-14. – URL:
<https://books.google.ru/books?id=jEbExXdNEwwC&printsec=frontcover&hl=ru#v=onepage&q&f=false> (accessed: 29.12.2023).
55. Bruhwyler, J. Pirlindole: a selective reversible inhibitor of monoamine oxidase A. A review of its preclinical properties / J. Bruhwyler, J. F. Liégeois, J. Géczy // *Pharmacol Res.* – 1997. – Vol. 36, № 1. – P. 23-33.
56. Carpenter, T. S. Identification of a possible secondary picrotoxin-binding site on the GABA(A) receptor / Timothy S. Carpenter, Edmond Y. Lau, Felice C. Lightstone // *Chemical research in toxicology.* – 2013. – Vol. 26, № 10. – P. 1444-1454.
57. Catecholamine modulatory effects of nepicastat (RS-25560-197), a novel, potent and selective inhibitor of dopamine-beta-hydroxylase / W. C. Stanley, B. Li, D. W. Bonhaus [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 1997. – Vol. 121, № 8. – P. 1803-1809.
58. Characterization of 6-methoxyflavanone as a novel anxiolytic agent: A behavioral and pharmacokinetic approach / Shehla Akbar, Fazal Subhan, Nasiara Karim [et al] // *European journal of pharmacology.* – 2017. – Vol. 801. – P. 19-27.
59. Chauhan, M. Vilazodone for Major Depression in Adults: Pharmacological Profile and an Updated Review for Clinical Practice / Mohit Chauhan, Rebecca Parry, William V. Bobo // *Neuropsychiatr Dis Treat.* – 2022. – Vol. 18. – P. 1175-1193.
60. ChEMBL. – Text : electronic // EMBL-EBI. – URL:
<https://www.ebi.ac.uk/chembl> (accessed: 29.11.2021).
61. Chemical update on the potential for serotonin 5-HT6 and 5-HT7 receptor agents in the treatment of Alzheimer's disease / Katarzyna Kucwaj-Brysz, Hanna Baltrukovich, Kinga Czarnota, Jadwiga Handzlik // *Bioorg Med Chem Lett.* – 2021. – Vol. 49. – P. 128275.

62. Chokhawala, K. Antipsychotic Medications / Krutika Chokhawala, Lee Stevens. – Text : electronic // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2023. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519503> (accessed: 29.12.2023).
63. Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability / Svitlana Antoniuk, Monika Bijata, Evgeni Ponimaskin, Jakub Wlodarczyk // *Neurosci Biobehav Rev.* – 2019. – Vol. 99. – P. 101-116.
64. Clinical guidelines for psychiatrists for the use of pharmacogenetic testing for CYP450 2D6 and CYP450 2C19 / Jose de Leon, Scott C. Armstrong, Kelly L. Cozza // *Psychosomatics.* – 2006. – Vol. 47, № 1. – P. 75-85.
65. Cognitive behavioral therapy for anxiety and related disorders: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials / Joseph K. Carpenter, Leigh A. Andrews, Sara M. Witcraft [et al.] // *Depression and anxiety.* – 2018. – Vol. 35, № 6. – P. 502-514.
66. Combined network pharmacology and virtual reverse pharmacology approaches for identification of potential targets to treat vascular dementia / Alexey A. Lagunin, Sergey M. Ivanov, Tatyana A. Glorizova [et al.] // *Scientific Reports.* – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 257.
67. Comorbid anxiety in late-life depression: Relationship with remission and suicidal ideation on venlafaxine treatment / Yasmina M. Saade, Ginger Nicol, Eric J. Lenze [et al.] // *Depress Anxiety.* – 2019. – Vol. 36, № 12. – P. 1125-1134.
68. Co-morbid major depression and generalized anxiety disorders in the National Comorbidity Survey follow-up / R. C. Kessler, M. Gruber, J. M. Hettema [et al.] // *Psychol Med.* – 2008. – Vol. 38, № 3. – P. 365-374.
69. Comparison of somnolence associated with asenapine, olanzapine, risperidone, and haloperidol relative to placebo in patients with schizophrenia or bipolar disorder / Keming Gao, Mary Mackle, Pilar Cazorla [et al.] // *Neuropsychiatric disease and treatment.* – 2013. – Vol. 9. – P. 1145-1157.
70. Computer-aided insights into receptor-ligand interaction for novel 5-arylhydantoin derivatives as serotonin 5-HT₇ receptor agents with antidepressant

activity / Katarzyna Kucwaj-Brysz, Rafał Kurczab, Magdalena Jastrzębska-Więsek [et al.] // *European journal of medicinal chemistry*. – 2018. – Vol. 147. – P. 102-114.

71. Computer-aided prediction of biological activity spectra for organic compounds: The possibilities and limitations / V. V. Poroikov, D. A. Filimonov, T. A. Glorizova [et al.] // *Russian Chemical Bulletin*. – 2019. – Vol. 68, № 12. – P. 2143-2154.

72. Computer-aided studies for novel arylhydantoin 1, 3, 5-triazine derivatives as 5-HT₆ serotonin receptor ligands with antidepressive-like, anxiolytic and antiobesity action in vivo / Rafał Kurczab, Wesam Ali, Dorota Łażewska [et al.] // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23, № 10. – P. 2529.

73. Concomitant treatment with sertraline and social skills training improves social skills acquisition in social anxiety disorder: A double-blind, randomized controlled trial / Marcio Bernik, Fabio Corregiari, Mariangela Gentil Savoia [et al.] // *PLoS One*. – 2018. – Vol. 13, № 10. – P. e0205809.

74. Consensus drug design using IT microcosm / P. M. Vassiliev, A. A. Spasov, V. A. Kosolapov [et al.] // *Application of computational techniques in pharmacy and medicine*. – Netherlands : Springer Netherlands, 2014. – P. 369-431.

75. Cox, B. The effect of ambient temperature on the actions of tremorine on body temperature and on the concentration of noradrenaline, dopamine, 5-hydroxytryptamine and acetylcholine in rat brain / B. Cox, D. Potkonjak // *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. – 1967. – Vol. 31, № 2. – P. 356-366.

76. Craske, M. G. Anxiety / Michelle G. Craske, Murray B. Stein // *Lancet*. – 2016. – Vol. 388, № 10063. – P. 3048-3059.

77. Cryan, J. F. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs / John F. Cryan, Athina Markou, Irwin Lucki // *Trends Pharmacol Sci*. – 2002. – Vol. 23, № 5. – P. 238-245.

78. Cryan, J. F. Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test / John F. Cryan, Michelle E. Page, Irwin Lucki // *Eur J Pharmacol*. – 2002. – Vol. 436, № 5. – P. 197-205.

79. Cryan, J. F. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice / John F. Cryan, Cedric

Mombereau, Annick Vassout // *Neurosci Biobehav Rev.* – 2005. – Vol. 29, № 4-5. – P. 571-625.

80. Daina, A. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules / Antoine Daina, Olivier Michielin, Vincent Zoete // *Scientific reports.* – 2017. – Vol. 7. – P. 42717.

81. Derivatives of a new heterocyclic system - pyrano[3,4-c][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridines: synthesis, docking analysis and neurotropic activity / Ervand G. Paronikyan, Anthi Petrou, Maria Fesatidou [et al.] // *Medchemcomm.* – 2019. – Vol. 10, № 8. – P. 1399-1411.

82. Dhaliwal, J. S. Diazepam / Jaberpreet S. Dhaliwal, Alan Rosani, Abdolreza Saadabadi. – Text : electronic // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2022. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537022> (accessed: 29.12.2023).

83. Dhaliwal, J. S. Duloxetine/ Jaberpreet S. Dhaliwal, Benjamin C. Spurling, Mohammed Molla. – Text : electronic // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2022. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549806> (accessed: 29.12.2023).

84. Di Giovanni, G. Role of serotonin in central dopamine dysfunction / Giuseppe Di Giovanni, Ennio Esposito, Vincenzo Di Matteo // *CNS Neurosci Ther.* – 2010. – Vol. 16, № 3. – P. 179-194.

85. Diagnostic consequences of a new category of anxious depression and a reduced duration requirement for anxiety symptoms in the ICD-11 / Carolina Ziebold, Jair J. Mari, David P. Goldberg [et al.] // *J Affect Disord.* – 2019. – Vol. 245. – P. 120-125.

86. Differential dependence on GluR2 expression of three characteristic features of AMPA receptors / M. S. Washburn, M. Numberger, S. Zhang, R. Dingledine // *J. Neurosci.* – 1997. – Vol. 17, № 24. – P. 9393-9406.

87. Differential effects of caffeine on the antidepressant-like effect of amitriptyline in female rat subpopulations with low and high immobility in the forced swimming test / Andrea Enríquez-Castillo, Javier Alamilla, Jaime Barral [et al.] // *Physiology & behavior.* – 2008. – Vol. 94, № 3. – P. 501-509.

88. Discovery and Preclinical Characterization of 3-((4-(4-Chlorophenyl)-7-fluoroquinoline-3-yl)sulfonyl)benzotrile, a Novel Non-acetylenic Metabotropic Glutamate Receptor 5 (mGluR5) Negative Allosteric Modulator for Psychiatric Indications / János Galambos, Attila Bielik, Mikhail Krasavin [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 60, № 6. – P. 2470-2484.
89. Dubin, U. *Cross-Entropy Method: Theory with Applications* / Uri Dubin. – Chisinau : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013. – 148 p. – ISBN 978-3659477164.
90. Edmondson, D. E. The covalent FAD of monoamine oxidase: structural and functional role and mechanism of the flavinylation reaction / D. E. Edmondson, P. Newton-Vinson // *Antioxid Redox Signal.* – 2001. – Vol. 3, № 5. – P. 789-806.
91. Effect of clozapine on locomotor activity and anxiety-related behavior in the neonatal mice administered MK-801 / Neslihan Pınar, Kubra Akillioglu, Fatih Sefil [et al.] // *Bosn J Basic Med Sci.* – 2015. – Vol. 15, № 3. – P. 74-79.
92. Effect of magnesium supplementation containing mineral bishofit ($MgCl_2 \times 6H_2O$) solution and pyridoxine hydrochloride on erythrocyte magnesium depletion and behaviour of rats after three-month alcoholization / Igor N. Iezhitsa, Natalia V. Onishchenko, Natalia V. Churbakova [et al.] // *Magnes Res.* – 2002. – Vol. 15, № 3-4. – P. 179-189.
93. Effects of (-)-stepholidine on NMDA receptors: comparison with haloperidol and clozapine / Wei-hua Gu, Shen Yang, Wei-xing Shi [et al.] // *Acta Pharmacol Sin.* – 2007. – Vol. 28, № 7. – P. 953-958.
94. Effects of a New Benzimidazole Derivative with Actoprotective Properties on Spermatogenic Epithelium of the Testes and Fertility of Male White Rats / L. I. Bugaeva, E. A. Kuzubova, V. I. Petrov [et al.] // *Bull Exp Biol Med.* – 2020. – Vol. 169, № 1. – P. 57-59.
95. Effects of cytochrome P450 2D6 and 3A5 genotypes and possible coadministered medicines on the metabolic clearance of antidepressant mirtazapine in Japanese patients / Maho Okubo, Norie Murayama, Jun Miura [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 2015. – Vol. 93, № 1. – P. 104-109.

96. Effects of mood stabilizers on marble-burying behavior in mice: involvement of GABAergic system / Nobuaki Egashira, Moe Abe, Atsunori Shirakawa [et al.] // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2013. – Vol. 226, № 2. – P. 295-305.
97. Effects of picrotoxin on zebrafish larvae behaviors: A comparison study with PTZ / Xue Yang, Jia Lin, Xiaolan Peng [et al.] // *Epilepsy & Behavior*. – 2017. – Vol. 70, № Pt A. – P. 224-231.
98. Eight inhibitory monoclonal antibodies define the role of individual P-450s in human liver microsomal diazepam, 7-ethoxycoumarin, and imipramine metabolism / T. J. Yang, K. W. Krausz, Y. Sai [et al.] // *Drug Metab Dispos*. – 1999. – Vol. 27, № 1. – P. 102-109.
99. El Rouby, N. Proton pump inhibitors: from CYP2C19 pharmacogenetics to precision medicine / Nihal El Rouby, John J. Lima, Julie A. Johnson // *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. – 2018. – Vol. 14, № 4. – P. 447-460.
100. Elección del mejor antidepresivo en pacientes con cáncer de mama en tratamiento con tamoxifeno: revisión de la evidencia básica y clínica [Antidepressants agents in breast cancer patients using tamoxifen: review of basic and clinical evidence] / María Elisa Irrarrázaval O., Leonardo Gaete G. // *Rev Med Chil*. – 2016. – Vol. 144, № 10. – P. 1326-1335.
101. Emerging drugs for the treatment of anxiety / James W. Murrough, Sahab Yaqubi, Sehrish Sayed, Dennis S. Charney // *Expert Opin Emerg Drugs*. – 2015. – Vol. 20, № 3. – P. 393-406.
102. Estimation of the level of anxiety in rats: differences in results of open-field test, elevated plus-maze test, and Vogel's conflict test / S. K. Sudakov, G. A. Nazarova, E. V. Alekseeva, V. G. Bashkatova // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2013. – Vol. 155, № 3. – P. 295-297.
103. Evaluation of Neurotropic Activity and Molecular Docking Study of New Derivatives of pyrano[4'',3'':4',5']pyrido[3',2':4,5]thieno[3,2-d]pyrimidines on the Basis of pyrano[3,4-c]pyridines / Shushanik Sh. Dashyan, Eugene V. Babaev, Ervand G. Paronikyan [et al.] // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27, № 11. – P. 3380.

104. Evaluation of the dopamine β -hydroxylase (D β H) inhibitor nepicastat in participants who meet criteria for cocaine use disorder / Richard De La Garza 2nd, Marcy J. Bubar, Crystal L. Carbone [et al.] // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. – 2015. – Vol. 59. – P. 40-48.
105. Evron, T. GRK2: multiple roles beyond G protein-coupled receptor desensitization / Tama Evron, Tanya L. Daigle, Marc G Caron // *Trends in pharmacological sciences*. – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 154-164.
106. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety / B. Costall, B. J. Jones, M. E. Kelly [et al.] // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1989. – Vol. 32, № 3. – P. 777-785.
107. Exposure to CYP3A4-inducing and CYP3A4-non-inducing antiepileptic agents and the risk of fractures / Hedi Schelleman, John R. Pollard, Craig Newcomb [et al.] // *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* – 2011. – Vol. 20, № 6. – P. 619-625.
108. F15599, a highly selective post-synaptic 5-HT(1A) receptor agonist: in-vivo profile in behavioural models of antidepressant and serotonergic activity / Marie-Bernadette Assié, Laurent Bardin, Agnès L. Auclair [et al] // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2010. – Vol. 13, № 10. – P. 1285-1298.
109. Fagiolini, M. Specific GABAA circuits for visual cortical plasticity / Michela Fagiolini, Jean-Marc Fritschy, Karin Löw // *Science*. – 2004. – Vol. 303, № 5664. – P. 1681-1683.
110. Faouzi, A. Biased Opioid Ligands / Abdelfattah Faouzi, Balazs R. Varga, Susruta Majumdar // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, № 18. – P. 4257.
111. Fattorini, G. Reappraisal of GAT-1 Localization in Neocortex / Giorgia Fattorini, Marcello Melone, Fiorenzo Conti // *Front Cell Neurosci*. – 2020. – Vol. 14. – P. 9.
112. Fawcett, J. Review of the results from clinical studies on the efficacy, safety and tolerability of mirtazapine for the treatment of patients with major depression / J. Fawcett, R. L. Barkin // *J Affect Disord*. – 1998. – Vol. 51, № 3. – P. 267-285.
113. Faye, C. Rapid Anxiolytic Effects of RS67333, a Serotonin Type 4 Receptor Agonist, and Diazepam, a Benzodiazepine, Are Mediated by Projections From the

Prefrontal Cortex to the Dorsal Raphe Nucleus / Charlène Faye, René Hen, Bruno P. Guiard // *Biol Psychiatry*. – 2020. – Vol. 87, № 6. – P. 514-525.

114. Flumazenil-insensitive benzodiazepine binding sites in GABAA receptors contribute to benzodiazepine-induced immobility in zebrafish larvae / Yanqing Cao, Hui Yan, Gang Yu, Ruibin Su // *Life Sci*. – 2019. – Vol. 239. – P. 117033.

115. Frangaj, A. Structural biology of GABAB receptor / Aurel Frangaj, Qing R. Fan // *Neuropharmacology*. – 2018. – Vol. 136, № Pt A. – P. 68-79.

116. Freire, R. C. Neurostimulation in anxiety disorders, post-traumatic stress disorder, and obsessive-compulsive disorder / Rafael Christophe Freire, Casimiro Cabrera-Abreu, Roumen Milev // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2020. – Vol. 1191. – P. 331-346.

117. Fritzius, T. The organizing principle of GABAB receptor complexes: Physiological and pharmacological implications / Thorsten Fritzius, Bernhard Bettler // *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. – 2020. – Vol. 126, № Suppl 6. – P. 25-34.

118. Fuchs, T. Ecology of the brain: The phenomenology and biology of the embodied mind / Thomas Fuchs. – Oxford : Oxford University Press, 2017. – 368 p. – ISBN 978-0199646883.

119. Fuhr, U. Verapamil and drug metabolism by the cytochrome P450 isoform CYP1A2 / U. Fuhr, B. G. Woodcock, M. Siewert // *Eur J Clin Pharmacol*. – 1992. – Vol. 42, № 4. – P. 463-464.

120. Fyn is required for haloperidol-induced catalepsy in mice / Kotaro Hattori, Shigeo Uchino, Tomoko Isosaka [et al.] // *J Biol Chem*. – 2006. – Vol. 281, № 11. – P. 7129-7135.

121. GABAA receptor subunits in the human amygdala and hippocampus: Immunohistochemical distribution of 7 subunits / Harald Stefanits, Ivan Milenkovic, Nina Mahr [et al.] // *Journal of Comparative Neurology*. – 2018. – Vol. 526, №. 2. – P. 324-348.

122. GABAergic inhibition of histaminergic neurons regulates active waking but not the sleep–wake switch or propofol-induced loss of consciousness / Anna Y. Zecharia,

- Xiao Yu, Thomas Götz [et al.] // *Journal of Neuroscience*. – 2012. – Vol. 32, № 38. – P. 13062-13075.
123. GBD 2015: from big data to meaningful change / *The Lancet* // *Lancet*. – 2016. – Vol. 388, № 10053. – P. 1447.
124. Gene expression on liver toxicity induced by administration of haloperidol in rats with severe fatty liver / Masakazu Hanagama, Hiromasa Inoue, Munechika Kamiya [et al.] // *Leg Med (Tokyo)*. – 2008. – Vol. 10, № 4. – P. 177-184.
125. Genetic and pharmacological evidence of a role for GABAB receptors in the modulation of anxiety and antidepressant-like behavior / Cedric Mombereau, Klemens Kaupmann, Wolfgang Froestl [et al.] // *Neuropsychopharmacology*. – 2004. – Vol. 29. – P. 1050-1062.
126. George, K. GABA Inhibitors / Kevin George, Charles V. Preuss, Nazia M. Sadiq. – Text : electronic // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2023. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545230> (accessed: 29.12.2023).
127. Ghanavatian, S. Baclofen / Shirin Ghanavatian, Armen Derian. – Text : electronic // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2022. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526037> (accessed: 29.12.2023).
128. Greenblatt, H. K. Gabapentin and Pregabalin for the Treatment of Anxiety Disorders / H. Karl Greenblatt, David J. Greenblatt // *Clin Pharmacol Drug Dev*. – 2018. – Vol. 7, № 3. – P. 228-232.
129. Gribel, G. 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery / Guy Griebel, Andrew Holmes // *Nat Rev Drug Discov*. – 2013. – Vol. 12, № 9. – P. 667-687.
130. Harvey, B. H. Metabotropic and ionotropic glutamate receptors as neurobiological targets in anxiety and stress-related disorders: focus on pharmacology and preclinical translational models / Brian H. Harvey, Mohammed Shahid // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 2012. – Vol. 100, № 4. – P. 775-800.
131. HBK-17, a 5-HT_{1A} Receptor Ligand With Anxiolytic-Like Activity, Preferentially Activates β -Arrestin Signaling / Karolina Pytka, Monika Głuch-Lutwin, Elżbieta Żmudzka [et al.] // *Front Pharmacol*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1146.

132. Hegde, S. S. Dopamine-beta-hydroxylase inhibition: a novel sympatho-modulatory approach for the treatment of congestive heart failure / S. S. Hegde, K. F. Friday // *Curr Pharm Des.* – 1998. – Vol. 4, № 6. – P. 469-479.
133. Hershenberg, R. Role of atypical antipsychotics in the treatment of generalized anxiety disorder / Rachel Hershenberg, Daniel F. Gros, Olga Brawman-Mintzer // *CNS Drugs.* – 2014. – Vol. 28, № 6. – P. 519-533.
134. Hierarchical Assessment of the Structural Similarity of Pharmacologically Active Compounds / P. M. Vasil'ev, A. N. Kochetkov, L. R. Yanalieva [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* – 2021. – Vol. 54, № 10. – P. 1019-1023.
135. Hilbe, J. M. *Statistica 7: an overview* / Joseph M. Hilbe // *The American Statistician.* – 2007. – Vol. 61, № 1. – P. 91-94.
136. Histamine H1 receptor on astrocytes and neurons controls distinct aspects of mouse behavior / Anikó Kárpáti, Takeo Yoshikawa, Fumito Naganuma [et al.] // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 16451.
137. Histamine H3 receptor antagonist E177 attenuates amnesia induced by dizocilpine without modulation of anxiety-like behaviors in rats / Alaa Alachkar, Nadia Khan, Dorota Łażewska [et al.] // *Neuropsychiatr Dis Treat.* – 2019. – Vol. 15. – P. 531-542.
138. Howland, R. H. A benefit-risk assessment of agomelatine in the treatment of major depression / Robert H. Howland // *Drug Saf.* – 2011. – Vol. 34, № 9. – P. 709-731.
139. Howland, R. H. Buspirone: Back to the Future / Robert H. Howland // *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv.* – 2015. – Vol. 53, № 11. – P. 21-24.
140. Human liver microsomal diazepam metabolism using cDNA-expressed cytochrome P450s: role of CYP2B6, 2C19 and the 3A subfamily / S. Ono, Hatanaka, S. Miyazawa [et al.] // *Xenobiotica.* – 1996. – Vol. 26, № 11. – P. 1155-1166.
141. Identification and optimization of 2-aminobenzimidazole derivatives as novel inhibitors of TRPC 4 and TRPC 5 channels / Yingmin Zhu, Yungang Lu, Chunrong Qu [et al.] // *British journal of pharmacology.* – 2015. – Vol. 172, № 14. – P. 3495-3509.

142. Importance of the cytochrome P450 2D6 genotype for the drug metabolic interaction between chlorpromazine and haloperidol / Y. Suzuki, T. Someya, K. Shimoda [et al.] // *Ther Drug Monit.* – 2001. – Vol. 23, № 4. – P. 363-368.
143. In silico pharmacokinetic and molecular docking studies of small molecules derived from *Indigofera aspalathoides* Vahl targeting receptor tyrosine kinases / Sathish Kumar Paramashivam, Kalaivani Elayaperumal, Boopala Bhagavan Natarajan [et al.] // *Bioinformation.* – 2015. – Vol. 11, № 2. – P. 73-84.
144. In Silico Study Examining New Phenylpropanoids Targets with Antidepressant Activity / Poliane da Silva Calixto, Reinaldo Nóbrega de Almeida, Mirian G. S. Stiebbe Salvadori [et al.] // *Curr Drug Targets.* – 2021. – Vol. 22, № 5. – P. 539-554.
145. In vitro and in vivo evaluations of cytochrome P450 1A2 interactions with duloxetine / Evelyn D. Lobo, Richard F. Bergstrom, Shobha Reddy [et al.] // *Clin Pharmacokinet.* – 2008. – Vol. 47, № 3. – P. 191-202.
146. In vitro and in vivo pharmacological characterization of SSD114, a novel GABAB positive allosteric modulator / Alessandra Porcu, Carla Lobina, Daniela Giunta [et al.] // *European Journal of Pharmacology.* – 2016. – Vol. 791. – P. 115-123.
147. Individual differences in behavioural despair predict brain GSK-3beta expression in mice: the power of a modified swim test / Tatyana Strekalova, Nataliia Markova, Elena Shevtsova [et al.] // *Neural Plasticity.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 5098591.
148. Influence of Diazepino[1,2-a]benzimidazole derivative (DAB-19) on behavioral aspects of animals / D. V. Maltsev, A. A. Spasov, M. V. Miroshnikov [et al.] // *Research Results in Pharmacology.* – 2020. – Vol. 6, № 3. – P. 9-14.
149. Inhibition of G Protein-Coupled Receptor Kinase 2 Promotes Unbiased Downregulation of IGF1 Receptor and Restrains Malignant Cell Growth / Caitrin Crudden, Takashi Shibano, Dawei Song [et al.] // *Cancer research.* – 2021. – Vol. 81, № 2. – P. 501-514.
150. Innovations and changes in the ICD-11 classification of mental, behavioural and neurodevelopmental disorders / Geoffrey M. Reed, Michael B. First, Cary S. Kogan [et al.] // *World Psychiatry.* – 2019. – Vol. 18, № 1. – P. 3-19.

151. Integrated network pharmacology and metabolomics to dissect the combination mechanisms of Bupleurum chinense DC-Paeonia lactiflora Pall herb pair for treating depression / Xiao Li, Xue-Mei Qin, Jun-Sheng Tian [et al.] // *J Ethnopharmacol.* – 2021. – Vol. 264. – P. 113281.
152. Intervention in Neuropsychiatric Disorders by Suppressing Inflammatory and Oxidative Stress Signal and Exploration of In Silico Studies for Potential Lead Compounds from Holigarna caustica (Dennst.) Oken leaves / Md. Adnan, Md. Nazim Uddin Chy, A. T. M. Mostafa Kamal [et al] // *Biomolecules.* – 2020. – Vol. 10, №. 4. – P. 561.
153. Intra- and interstrain differences in models of "behavioral despair" / F. Bai, X. Li, M. Clay [et al] // *Pharmacol Biochem Behav.* – 2001. – Vol. 70. – P. 187-192.
154. Investigation of the mechanisms of neuroprotection mediated by Ro5-4864 in brain injury / Eilam Palzur, Aviram Sharon, Mona Shehadeh, Jean Francois Soustiel // *Neuroscience.* – 2016. – Vol. 329. – P. 162-170.
155. Involvement of Chaperone Sigma1R in the Anxiolytic Effect of Fabomotizole / Mikhail V. Voronin, Yulia V. Vakhitova, Inna P. Tsypysheva [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 11. – P. 5455.
156. Jamadarkhana, S. Clonidine in adults as a sedative agent in the intensive care unit / Sunil Jamadarkhana, Shameer Gopal // *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* – 2010. – Vol. 26, № 4. – P. 439-445.
157. Jenner, P. Apomorphine – pharmacological properties and clinical trials in Parkinson's disease / Peter Jenner, Regina Katzenschlager // *Park Relat Disord.* – 2016. – Vol. 33, № Suppl 1. – P. S13-S21.
158. Kahn, R. S. L-5-hydroxytryptophan in the treatment of anxiety disorders / R. S. Kahn, H. G. Westenberg // *J Affect Disord.* – 1985. – Vol. 8, № 2. – P. 197-200.
159. Kandola, A. Exercise and Anxiety / Aaron Kandola, Brendon Stubbs // *Advances in experimental medicine and biology.* – 2020. – Vol. 1228. – P. 345-352.
160. Kärkkäinen, J. Nialamide, an MAO inhibitor, increases urinary excretion of endogenously produced bufotenin in man / J. Kärkkäinen, M. Räisänen // *Biol Psychiatry.* – 1992. – Vol. 32, № 11. – P. 1042-1048.

161. Kim, T. Translocator protein (TSPO) ligands for the diagnosis or treatment of neurodegenerative diseases: a patent review (2010-2015; part 1) / TaeHun Kim, Ae Nim Pae // Expert opinion on therapeutic patents. – 2016. – Vol. 26, № 11. – P. 1325-1351.
162. Kolmogorov, A. N. On the representation of continuous functions of many variables by superposition of continuous functions of one variable and addition / A. N. Kolmogorov // Proc. USSR Acad. Sci. – 1957. – Vol. 114, № 5. – P. 953-956.
163. Krishna, R. Effects of combined MAO-B inhibitors and levodopa vs. monotherapy in Parkinson's disease / Rakhee Krishna, Manal Ali, Ahmed A. Moustafa // Front Aging Neurosci. – 2014. – Vol. 6. – P. 180.
164. Lack of Major Involvement of Common CYP2C Gene Polymorphisms in the Risk of Developing Cross-Hypersensitivity to NSAIDs / Yolanda Macías, Jesús M. García-Menaya, Manuel Martí [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2021. – Vol. 12. – P. 648262.
165. Lapin, I. Phenibut (beta-phenyl-GABA): a tranquilizer and nootropic drug / I. Lapin // CNS Drug Rev. – 2001. – Vol. 7, № 4. – P. 471-481.
166. Late-occurring and Long-circulating Metabolites of GABA_A α _{2,3} Receptor Modulator AZD₇₃₂₅ Involving Metabolic Cyclization and Aromatization: Relevance to MIST Analysis and Application for Patient Compliance / Chungang Gu, Markus Artelsmair, Charles S. Elmore [et al.] // Drug Metab Dispos. – 2018. – Vol. 46, № 3. – P. 303-315.
167. Li, S. Network pharmacology evaluation method guidance-draft / Shao Li // World Journal of Traditional Chinese Medicine. – 2021. – Vol. 7, № 1. – P. 146-154.
168. Lifetime prevalence of mental disorders in U.S. adolescents: results from the National Comorbidity Survey Replication--Adolescent Supplement (NCS-A) / Kathleen Ries Merikangas, Jian-Ping He, Marcy Burstein, Sonja A. Swanson [et al.] // J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. – 2010. – Vol. 49, № 10. – P. 980-989.
169. LigPlot+ v.2.2 - ligand-protein interaction diagrams. – Text : electronic // EMBL-EBI. - URL: <https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LigPlus> (accessed: 29.11.2021).

170. Lima, L. M. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design / Lídia Moreira Lima, Eliezer J. Barreiro // *Current medicinal chemistry*. – 2005. – Vol. 12, № 1. – P. 23-49.
171. Lipid Rafts and Dopamine Receptor Signaling / Victor J. Martinez, Laureano D. Asico, Pedro A. Jose, Andrew C. Tiu // *Int J Mol Sci*. – 2020. – Vol. 21, № 23. – P. 8909.
172. Longer term benefits of exercise and escitalopram in the treatment of anxiety in patients with coronary heart disease: Six month follow-up of the UNWIND randomized clinical trial / James A. Blumenthal, Patrick J. Smith, Wei Jiang [et al.] // *Am Heart J*. – 2022. – Vol. 251. – P. 91-100.
173. Lucki, I. A prescription to resist proscriptions for murine models of depression / I Lucki // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2001. – Vol. 153, № 3. – P. 395-398.
174. Maffei, M. 5-Hydroxytryptophan (5-HTP): Natural Occurrence, Analysis, Biosynthesis, Biotechnology, Physiology and Toxicology / Massimo E Maffei // *Int J Mol Sci*. – 2020. – Vol. 22, № 1. – P. 181.
175. Management of mood and anxiety disorders in patients receiving opioid agonist therapy: Review and meta-analysis / Ahmed N. Hassan, Aaron S. Howe, Andriy V. Samokhvalov [et al.] // *Am J Addict*. -2017. – Vol. 26, № 6. – P. 551-563.
176. Martin, J. R. Influence of the 5-HT_{2C} receptor antagonist, SB-242084, in tests of anxiety / James R. Martin, Theresa M. Ballard, Guy A. Higgins // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2002. – Vol. 71, № 4. – P. 615-625.
177. Marvin. – Text : electronic // Chem-bioinformatics software for the next generation of scientists / ChemAxon. – URL: <https://chemaxon.com/products/marvin> (accessed: 29.11.2021).
178. McCorvy, J. D. Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors / John D. McCorvy, Bryan L. Roth // *Pharmacol Ther*. – 2015. – Vol. 150. – P. 129-142.
179. Mechanism-based inhibition of human liver microsomal cytochrome P450 1A2 by zileuton, a 5-lipoxygenase inhibitor / Ping Lu, Michael L. Schrag, Donald E. Slaughter [et al.] // *Drug Metab Dispos*. – 2003. – Vol. 31, № 11. – P. 1352-1360.

180. MedCalc / MedCalc Software Ltd. – URL: <https://www.medcalc.org> (accessed: 29.11.2021). – Text : electronic.
181. Metabolism and Mechanism of Human Cytochrome P450 Enzyme 1A2 / Jingchao Guo, Xiaohui Zhu, Sara Badawy [et al.] // *Curr Drug Metab.* – 2021. – Vol. 22, № 1. – P. 40-49.
182. Metabolism of a Novel Anxiolytic GML-1 in Rats / A. A. Novitskii, P. O. Bochkov, R. V. Shevchenko [et al.] // *Bull Exp Biol Med.* – 2018. – Vol. 165, № 6. – P. 751-753.
183. Metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGlu5) is necessary for estradiol mitigation of light-induced anxiety behavior in female rats / Christiana K. Miller, Amanda A. Krentzel, Heather B. Patisaul, John Meitzen // *Physiol Behav.* – 2020. – Vol. 214. – P. 112770.
184. MF-8, a novel promising arylpiperazine-hydantoin based 5-HT₇ receptor antagonist: In vitro drug-likeness studies and in vivo pharmacological evaluation / Gniewomir Latacz, Annamaria Lubelska, Magdalena Jastrzębska-Więsek [et al.] // *Bioorganic & medicinal chemistry letters.* – 2018. – Vol. 28, № 5. – P. 878-883.
185. Milenin, V. V. Comparative characteristics of hydroxyzine (atarax) and diazepam in the premedication regimen in children in dental practice / V. V. Milenin // *Anesteziol Reanimatol.* – 2010. – № 1. – P. 23-25.
186. Millan, M. J. The neurobiology and control of anxious states / Mark J. Millan // *Progress in neurobiology.* – 2003. – Vol. 70, № 2. – P. 83-244.
187. Miller, H. E. Effect of acute tryptophan depletion on CO₂-induced anxiety in patients with panic disorder and normal volunteers / H. E. Miller, J. F. Deakin, I. M. Anderson // *Br J Psychiatry.* – 2000. – Vol. 176. – P. 182-188.
188. Moclobemide, a substrate of CYP2C19 and an inhibitor of CYP2C19, CYP2D6, and CYP1A2: a panel study / L. F. Gram, T. W. Guentert, S. Grange [et al.] // *Clin Pharmacol Ther.* – 1995. – Vol. 57, № 6. – P. 670-677.
189. Modeling seizure-related behavioral and endocrine phenotypes in adult zebrafish / Keith Wong, Adam Stewart, Thomas Gilder [et al.] // *Brain research.* – 2010. – Vol. 1348. – P. 209-215.

190. Modulatory effects of two novel agonists for serotonin receptor 7 on emotion, motivation and circadian rhythm profiles in mice / Walter Adriani, Domenica Travaglini, Enza Lacivita [et al] // *Neuropharmacology*. – 2012. – Vol. 62, № 2. – P. 833–842.
191. Möhler, H. A new benzodiazepine pharmacology / H. Möhler, J. M. Fritschy, U. Rudolph // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2002. – Vol. 300, № 1. – P. 2-8.
192. Monaghan, C. K. Systemic administration of two different anxiolytic drugs decreases local field potential theta frequency in the medial entorhinal cortex without affecting grid cell firing fields / Caitlin K. Monaghan, G. William Chapman 4th, Michael E. Hasselmo // *Neuroscience*. – 2017. – Vol. 364. – P. 60-70.
193. Monoamine oxidase A hypomethylation in obsessive-compulsive disorder - reversibility by successful psychotherapy? / Miriam A. Schiele, Christiane Thiel, Jürgen Deckert [et al.] // *Int J Neuropsychopharmacol*. – 2020. – Vol. 23, № 5. – P. 319-323.
194. Monoamine oxidase: radiotracer chemistry and human studies / Joanna S. Fowler, Jean Logan, Elena Shumay [et al.] // *J Labelled Comp Radiopharm*. – 2015. – Vol. 58, № 3. – P. 51-64.
195. MOPAC2012. – URL: <http://www.openmopac.net/MOPAC2012.html> (accessed: 29.11.2021).
196. Mortensen, M. GABA potency at GABAA receptors found in synaptic and extrasynaptic zones / Martin Mortensen, Bijal Patel, Trevor G Smart // *Frontiers in cellular neuroscience*. – 2012. – Vol. 6. – P. 1.
197. N1-benzenesulfonyl-2-pyrazoline hybrids in neurological disorders: Syntheses, biological screening and computational studies / Avinash C. Tripathi, Savita Upadhyay, Sarvesh Paliwal, Shailendra K. Saraf // *EXCLI J*. – 2018. – Vol. 17. – P. 126-148.
198. Nagase, H. Research and development of κ opioid receptor agonists and δ opioid receptor agonists / Hiroshi Nagase, Akiyoshi Saitoh // *Pharmacol Ther*. – 2020. – Vol. 205. – P. 107427.

199. Nazeri, M. Role of Opioid System in Empathy-like Behaviours in Rats / Masoud Nazeri, Akram Nezhadi, Mohammad Shabani // *Addict Health*. – 2019. – Vol. 11, № 4. – P. 216-222.
200. Nechita, D. A review of the influence the anxiety exerts on human life / Dan Nechita, Florina Nechita, Raluca Motorga // *Romanian journal of morphology and embryology*. – 2018. – Vol. 59, № 4. – P. 1045-1051.
201. Neonatal pain, still searching for the optimal approach / Elizabeth Walter-Nicolet, Laurent Calvel, Geraldine Gazzo [et al.] // *Current pharmaceutical design*. – 2017. – Vol. 23, № 38. – P. 5861-5878.
202. Neurochemicals for the investigation of GABA(C) receptors / Graham A. R. Johnston, Mary Chebib, Jane R. Hanrahan, Kenneth N. Mewett // *Neurochemical research*. – 2010. – Vol. 35, № 12. – P. 1970-1977.
203. Neuropharmacological and neurochemical evaluation of Nn-propyl-3-ethoxyquinoxaline-2-carboxamide (6n): a novel serotonergic 5-HT₃ receptor antagonist for co-morbid antidepressant-and anxiolytic-like potential using traumatic brain injury model in rats / Shvetank Bhatt, Radhakrishnan Mahesh, Ankur Jindal, Thangaraj Devadoss // *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*. – 2017. – Vol. 28, № 2. – P. 93-100.
204. Neuroprotective action of Cortexin, Cerebrolysin and Actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats / Denis V. Kurkin, Dmitry A. Bakulin, Evgeny I. Morkovin [et al.] // *PLoS One*. – 2021. – Vol. 16, № 7. – P. e0254493.
205. Neurosteroid-based intervention using Ganaxolone and Emapunil for improving stress-induced myelination deficits and neurobehavioural disorders / Gabrielle K. Crombie, Hannah K. Palliser, Julia C. Shaw [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2021. – Vol. 133. – P. 105423.
206. Nevels, R. M. Paroxetine-The Antidepressant from Hell? Probably Not, But Caution Required / Robert M. Nevels, Samuel T. Gontkovsky, Bryman E. Williams // *Psychopharmacol Bull*. – 2016. – Vol. 46, № 1. – P. 77-104.

207. New 2,3-Benzodiazepine Derivative: Synthesis, Activity on Central Nervous System, and Toxicity Study in Mice / Amal Amaghnoije, Serhii Bohza, Nathalie Bohdan [et al] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – Vol. 14, № 8. – P. 814.
208. Nicotinic receptor agonists exhibit anxiolytic-like effects on the elevated plus-maze test / J. D. Brioni, A. B. O'Neill, D. J. Kim, M. W. Decker // *European journal of pharmacology*. – 1993. – Vol. 238, № 1. – P. 1-8.
209. Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. 1. Acute treatments are active in the forced swim test / A. J. Harkin, K. H. Bruce, B. Craft, I. A. Paul // *Eur J Pharmacol*. – 1999. – Vol. 372, № 3. – P. 207-213.
210. Nordt, S. P. Midazolam: a review of therapeutic uses and toxicity / S. P. Nordt, R. F. Clark // *J Emerg Med* – 1997. – Vol. 15, № 3. – P. 357-365.
211. Novel antagonists of 5-HT₆ and/or 5-HT₇ receptors affect the brain monoamines metabolism and enhance the anti-immobility activity of different antidepressants in rats / Anna Partyka, Magdalena Jastrzębska-Więsek, Lucyna Antkiewicz-Michaluk [et al.] // *Behavioural brain research*. – 2019. – Vol. 359. – P. 9-16.
212. Novel insights on caffeine supplementation, CYP1A2 genotype, physiological responses and exercise performance / Gabriel Barreto, Beatriz Grecco, Pietro Merola [et al.] // *Eur J Appl Physiol*. – 2021. – Vol. 121, № 3. – P. 749-769.
213. Novel Molecule Exhibiting Selective Affinity for GABA A Receptor Subtypes / Cecilia M. Borghese, Melissa Herman, Lawrence D. Snell [et al.] // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 6230.
214. N-propyl-2, 2-diphenyl-2-hydroxyacetamide, a novel α -hydroxyamide with anticonvulsant, anxiolytic and antidepressant-like effects that inhibits voltage-gated sodium channels / Valentina Pastore, Cristina Wasowski, Pedro Martin [et al.] // *European journal of pharmacology*. – 2018. – Vol. 819. – P. 270-280.
215. Nutt, D. Moclobemide in the treatment of social phobia / D. Nutt, S. A. Montgomery // *Int Clin Psychopharmacol*. – 1996. – Vol. 11, № Suppl 3. – P. 77-82.
216. Obligatory roles of dopamine D1 receptors in the dentate gyrus in antidepressant actions of a selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine / Takahide Shuto, Mahomi

- Kuroiwa, Naoki Sotogaku [et al.] // *Molecular psychiatry*. – 2020. – Vol. 25, № 6. – P. 1229-1244.
217. Octopamine mediates sugar relief from a chronic-stress-induced depression-like state in *Drosophila* / Tim Hermanns, Sonja Graf-Boxhorn, Burkhard Poeck, Roland Strauss // *Current Biology*. – 2022. – Vol. 32, № 18. – P. 4048-4056.e3.
218. Olsen, R. W. GABAA receptor: Positive and negative allosteric modulators / Richard W. Olsen // *Neuropharmacology*. – 2018. – Vol. 136, № Pt A. – P. 10-22.
219. Olsen, R. W. GABA-benzodiazepine-barbiturate receptor interactions / R. W. Olsen // *J Neurochem*. – 1981. – Vol. 37, № 1. – P. 1-13.
220. Open Targets. – URL: <https://www.opentargets.org> (accessed: 29.11.2021). – Text : electronic.
221. P.4.C.002 anxiolytic action of a new 5-HT_{2A} antagonist RU-476 / D. V. Maltsev, D. S. Yakovlev, D. G. Matokhin [et al.] // *European Neuropsychopharmacology*. – 2013. – Vol. 23, № S2. – P. S519-S520.
222. PASS assisted prediction and pharmacological evaluation of novel nicotinic analogs for nootropic activity in mice / Navneet Khurana, Mohan Pal Singh Ishar, Asmita Gajbhiye, Rajesh Kumar Goel // *European journal of pharmacology*. – 2011. – Vol. 662, № 1. – P. 22-30.
223. PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products / Rajesh Kumar Goel, Damanpreet Singh, Alexey Lagunin, Vladimir Poroikov // *Medicinal Chemistry Research*. – 2011. – Vol. 20, № 9. – P. 1509-1514.
224. PDBe. – Text : electronic // EMBL-EBI. – URL: <https://www.ebi.ac.uk/pdbe> (accessed: 29.11.2021).
225. Perfilev, M. A. Detailing of the targeted mechanism of action of RAGE inhibitors through consensus sensitivity analysis of neural network models / M.A. Perfilev, P.M. Vassiliev, A.N. Kochetkov // *Modern medicine: new approaches and current research : proceedings of International scientific and practical conference dedicated to the 30th anniversary of the Medical Institute of the Chechen State University, Grozny, Russia, 22 October 2020*. – Grozny, 2020. P. 361-368.

226. Pharmacological characterization of nicotine-induced seizures in mice / M. I. Damaj, W. Glassco, M. Dukat, B. R. Martin // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1999. – Vol. 291, № 3. – P. 1284-1291.
227. Pharmacological evaluation of the anxiolytic-like effects of EMD 386088, a partial 5-HT₆ receptor agonist, in the rat elevated plus-maze and Vogel conflict tests / Magdalena Jastrzębska-Więsek, Agata Siwek, Anna Partyka [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2014. – Vol. 85. – P. 253-262.
228. Pharmacological interventions for benzodiazepine discontinuation in chronic benzodiazepine users / Lone Baandrup, Bjørn H. Ebdrup, Jesper Ø. Rasmussen [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2018. – Vol. 3, № 3. – P. CD011481.
229. Pharmacologically Distinctive Behaviors other than Burying Marbles during the Marble Burying Test in Mice / Etsuko Hayashi, Kazuyoshi Kuratani, Mine Kinoshita, Hideaki Hara // *Pharmacology*. – 2010. – Vol. 86, № 5-6. – P. 293-296.
230. Pharmacology in translation: the preclinical and early clinical profile of the novel alpha_{2/3} functionally selective GABA_A receptor positive allosteric modulator PF-06372865 / Sarah A. Nickolls, Rachel Gurrell, Guido van Amerongen [et al.] // *Br J Pharmacol*. – 2018. – Vol. 175, № 4. – P. 708-725.
231. Phenotyping and genotyping of S-mephenytoin hydroxylase (cytochrome P450 2C19) in a Shona population of Zimbabwe / C. Masimirembwa, L. Bertilsson, I. Johansson [et al.] // *Clin Pharmacol Ther*. – 1995. – Vol. 57, № 6. – P. 656-661.
232. Pires, D. E. V. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures / Douglas E. V. Pires, Tom L. Blundell, David B. Ascher // *Journal of medicinal chemistry*. – 2015. – Vol. 58, № 9. – P. 4066-4072.
233. Plesnicar, B. K. CYP 2D6 polymorphism and antipsychotic therapy / Blanka Kores Plesnicar, Vita Dolzan, Bojan Zalar // *Psychiatr Danub*. – 2008. – Vol. 20, № 3. – P. 369-371.
234. Plutino, S. Extracellular mild acidosis decreases the Ca²⁺ permeability of the human NMDA receptors / Simona Plutino, Miriam Sciacaluga, Sergio Fucile // *Cell Calcium*. – 2019. – Vol. 80. – P. 63-70

235. Porsolt, R. Behavioral models of depression / Porsolt R. D., Lenegre A. // *Experimental Approaches to Anxiety and Depression* / ed.: Elliot J.M., Heal D.J., Marsden C.A. – New York : Willey, 1992. – P. 73-85.
236. Porsolt, R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R. D. Porsolt, M. Le Pichon, M. Jalfre // *Nature*. – 1977. – Vol. 266, № 5604. – P. 730-732.
237. Preclinical characterization of ACH-000029, a novel anxiolytic compound acting on serotonergic and alpha-adrenergic receptors / Hatylas Azevedo, Marcos Ferreira, Renata Watanabe Costa [et al] // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. – 2019. – Vol. 95. – P. 109707.
238. Prediction of Fluoxetine and Norfluoxetine Pharmacokinetic Profiles Using Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling / Hyeon-Cheol Jeong, Yoon-Jee Chae, Sooyeon Lee [et al.] // *J Clin Pharmacol*. – 2021. – Vol. 61, № 11. – P. 1505-1513.
239. Pregabalin and gabapentin in neuropathic pain management after spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis / Majid Davari, Bahman Amani, Behnam Amani [et al.] // *The Korean Journal of Pain*. – 2020. – Vol. 33, № 1. – P. 3-12.
240. Prevalence of stress, anxiety, depression among the general population during the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis / Nader Salari, Amin Hosseinian-Far, Rostam Jalali [et al.] // *Global Health*. – 2020. – Vol. 16, № 1. – P. 57.
241. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals / Priyanka Banerjee, Andreas O. Eckert, Anna K. Schrey, Robert Preissner // *Nucleic acids research*. – 2018. – Vol. 46, № W1. – P. W257-W263.
242. Prut, L. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review / Laetitia Prut, Catherine Belzung // *Eur J Pharmacol*. – 2003. – Vol. 463, № 1-3. – P. 3-33.
243. Psychotropic drug-drug interactions involving P-glycoprotein / Yumiko Akamine, Norio Yasui-Furukori, Ichiro Ieiri, Tsukasa Uno // *CNS Drugs*. – 2012. – Vol. 26, № 11. – P. 959-973.

244. Psychotropic drugs and CYP2D6 in late-life psychiatric and neurological disorders. What do we know? / Davide Seripa, Madia Lozupone, Eleonora Stella [et al.] // *Expert Opin Drug Saf.* – 2017. – Vol. 16, № 12. – P. 1373-1385.
245. Psychotropic Drugs for the Management of Chronic Pain and Itch / Daria A. Belinskaia, Mariia A. Belinskaia, Oleg I. Barygin [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2019. – Vol. 12, № 2. – P. 99.
246. Pukelshein, F. The three sigma rule / Friedrich Pukelsheim // *Am. Stat.* – 1994. – Vol. 48, № 2. – P. 88-91.
247. Pyrimidine thioethers: A novel class of antidepressant agents, endowed with anxiolytic, performance enhancing and nootropic activity / Rossella Fioravanti, Eleonora Proia, Ivan N Tyurenkov [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2023. – Vol. 245, № Pt 2. – P. 114902.
248. PyRx - Virtual Screening Tool / Slashdot Media. – URL: <https://sourceforge.net/projects/pyrx> (accessed: 29.11.2021). – Text : electronic.
249. Quetiapine monotherapy in acute treatment of generalized anxiety disorder: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / Narong Maneeton, Benchalak Maneeton, Pakapan Woottitluk [et al.] // *Drug Des Devel Ther.* – 2016. – Vol. 10. – P. 259-276.
250. Ramsay, R. R. Molecular aspects of monoamine oxidase B / Rona R. Ramsay // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. – 2016. – Vol. 69. – P. 81-89.
251. Rapid anti-PTSD-like activity of the TSPO agonist YL-IPA08: Emphasis on brain GABA, neurosteroids and HPA axis function / Chao Shang, Ying Guo, Jun-Qi Yao [et al.] // *Behav Brain Res.* – 2020. – Vol. 379. – P. 112320.
252. Remarkable progress with small-molecule modulation of TRPC1/4/5 channels: implications for understanding the channels in health and disease / Aisling Minard, Claudia C. Bauer, David J. Wright [et al.] // *Cells*. – 2018. – Vol. 7, №. 6. – P. 52.
253. Resident intruder paradigm-induced aggression relieves depressive-like behaviors in male rats subjected to chronic mild stress / Sheng Wei, Xiao-wei Ji, Chun-ling Wu [et al.] // *Medical Science Monitor*. – 2014. – Vol. 20. – P. 945-952.

254. Response of panic disorder to fixed doses of alprazolam or imipramine / E. H. Uhlenhuth, W. Matuzas, R. M. Glass, C. Easton // *J. Affect. Disord.* – 1989. – Vol. 17, № 3. – P. 261-270.
255. Rho, J. M. Barbiturate-like actions of the propanediol dicarbamates felbamate and meprobamate / J. M. Rho, S. D. Donevan, M. A. Rogawski // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* – 1997. – Vol. 280, № 3. – P. 1383-1391.
256. Rubin, R. J. Some Pharmacologic and Toxicologic Effects of Di 2-ethylhexyl Phthalate (DEHP) and Other Plasticizers / R. J. Rubin, R. J. Jaeger // *Environmental Health Perspectives.* – 1973. – Vol. 3. – P. 53-59.
257. Rudolph, U. Analysis of GABAA receptor function and dissection of the pharmacology of benzodiazepines and general anesthetics through mouse genetics / Uwe Rudolph, Hanns Möhler // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2004. – Vol. 44. – P. 475-498.
258. S32212, a Novel Serotonin Type 2C Receptor Inverse Agonist/2-Adrenoceptor Antagonist and Potential Antidepressant: II. A Behavioral, Neurochemical, and Electrophysiological Characterization / Anne Dekeyne, Mauricette Brocco, Florence Loiseau [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2012. – Vol. 340, № 3. – P. 765-780.
259. Sagi, Y. The neurochemical and behavioral effects of the novel cholinesterase-monoamine oxidase inhibitor, ladostigil, in response to L-dopa and L-tryptophan, in rats / Yotam Sagi, Noam Driguès, Moussa B H Youdim // *Br J Pharmacol.* – 2005. – Vol. 146, № 4. – P. 553-560.
260. Sartori, S. B. Novel pharmacological targets in drug development for the treatment of anxiety and anxiety-related disorders / Simone B. Sartori, Nicolas Singewald // *Pharmacol Ther.* – 2019. – Vol. 204. – P. 107402.
261. Schousboe, A. Delineation of the Role of Astroglial GABA Transporters in Seizure Control / Arne Schousboe, Karsten K. Madsen // *Neurochem Res.* – 2017. – Vol. 42, № 7. – P. 2019-2023.
262. Screening of anxiolytic properties and analysis of structure-activity relationship of new derivatives of 6-(4-methoxy)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-a][2,3]benzodiazepine

under the code RD / M. O. Skripka, A. A. Spasov, D. V. Maltsev [et al.] // Research Results in Pharmacology. – 2021. – Vol. 7, № 2. – P. 31-37.

263. Search for new potential anticonvulsants with anxiolytic and antidepressant properties among derivatives of 4,4-diphenylpyrrolidin-2-one / Katarzyna Malawska, Aleksandra Rak, Beata Gryzłó [et al.] // Pharmacol Rep. – 2017. – Vol. 69, № 1. – P. 105-111.

264. Searching for new anxiolytic agents among derivatives of 11-dialkylaminoethyl-2,3,4,5-tetrahydrodiazepino[1,2-a]benzimidazole / Dmitriy V. Maltsev, Alexander A. Spasov, Dmitriy S. Yakovlev [et al.] // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2021. – Vol. 161. – P. 105792.

265. Seibenhener, M. L. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice / Michael L. Seibenhener, Michael C. Wooten // Journal of Visualized Experiments – 2015. – № 96. – P. e52434.

266. Selective dopamine D3 receptor antagonism significantly attenuates stress-induced immobility in a rat model of post-traumatic stress disorder / Onarae V. Rice, Charles R. Ashby Jr, Clark Dixon [et al.] // Synapse. – 2018. – Vol. 72, № 8. – P. e22035.

267. Selegiline ameliorates depression-like behavior in mice lacking the CD157/BST1 gene, a risk factor for Parkinson's disease / Satoka Kasai, Toru Yoshihara, Olga Lopatina [et al.] // Frontiers in behavioral neuroscience. – 2017. – Vol. 11. – P. 75.

268. Serdiuk, S. E. Phenylephrine potentiates antidepressive and eliminates sedative action of amitriptyline in rats / S. E. Serdiuk, V. E. Gmiro // Rossiiskii Fiziologicheskii Zhurnal Imeni IM Sechenova. – 2014. – Vol T. 100, № 1. – P. 18-26.

269. Serotonin 5-HT 2C receptors regulate anxiety-like behavior / L. K. Heisler, L. Zhou, P. Bajwa [et al.] // Genes Brain Behav. – 2007. – Vol. 6, № 5. – P. 491-496.

270. Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies / Elżbieta Żmudzka, Kinga Sałaciak, Jacek Sapa, Karolina Pytka // Life sciences. – 2018. – Vol. 210. – P. 106-124.

271. Serotonin type 3 receptor genes: HTR3A, B, C, D, E / Beate Niesler, Johannes Kapeller, Christian Hammer, Gudrun Rappold // *Pharmacogenomics*. – 2008. – Vol. 9, № 5. – P. 501-504.
272. Shamon, S. D. Blood pressure-lowering efficacy of reserpine for primary hypertension / Sandy D. Shamon, Marco I. Perez // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2016. – Vol. 12, № 12. – P. CD007655
273. Sharma, H. 1,3,5-Pyrazoline Derivatives in CNS Disorders: Synthesis, Biological Evaluation and Structural Insights through Molecular Docking / Himanshi Sharma, Pooja A. Chawla, Rohit Bhatia // *CNS Neurol Disord Drug Targets*. – 2020. – Vol. 19, № 6. – P. 448-465.
274. Shimada, T. Pentylentetrazole-induced kindling mouse model / Tadayuki Shimada, Kanato Yamagata // *J Vis Exp*. – 2018. – № 136. – P. e56573.
275. Sigel, E. The Benzodiazepine Binding Sites of GABAA Receptors Trends / Erwin Sigel, Margot Ernst // *Pharmacol Sci*. – 2018. – Vol. 39, № 7. – P. 659-671.
276. Silverstone, T. Moclobemide--placebo-controlled trials / T. Silverstone // *Int Clin Psychopharmacol*. – 1993. – Vol. 7, № 3-4. – P. 133-136.
277. Soudijn, W. The GABA transporter and its inhibitors / W. Soudijn, I. van Wijngaarden // *Curr Med Chem*. – 2000. – Vol. 7, № 10. – P. 1063-1079.
278. Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) Are Resistant to a Reserpine-Induced Progressive Model of Parkinson's Disease: Differences in Motor Behavior, Tyrosine Hydroxylase and α -Synuclein Expression / Anderson H. F. F. Leão, Ywilliane S. R. Meurer, Anatildes F. da Silva [et al.] // *Front Aging Neurosci*. – 2017. – Vol. 9. – P. 78.
279. Stokes, M. Disulfiram / Maranda Stokes, Sara Abdijadid. – Text : electronic // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2022. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459340> (accessed: 29.12.2023).
280. Structure-activity relationship of three new piperazine derivates with anxiolytic-like and antidepressant-like effects / Ianca Gontijo Cavalcante Santana, Lorena de Souza Almeida, Lorrane Kelle da Silva Moreira [et al.] // *Can J Physiol Pharmacol*. – 2022. – Vol. 100, № 6. – P. 521-533.

281. Stucki, A. Anxiety, Inhibition and Feelings of Inferiority / A. Stucki // Praxis. – 1962. – Vol. 51. – P. 148-154.
282. Study of the absolute bioavailability of citrocard, a new GABA derivative / L. A. Smirnova, V. N. Perfilova, I. N. Tyurenkov [et al.] // Bull Exp Biol Med. – 2013. – Vol. 155, № 4. – P. 458-460.
283. Studying Dependences Between the Chemotype Structure of Some Natural Compounds and the Spectrum of Their Targeted Activities Correlated with the Hypoglycemic Effect / P. M. Vasilyev, D. A. Babkov, D. T. Appazova [et al.] // Journal of Structural Chemistry. – 2019. – Vol. 60, № 11. – P. 1827-1832.
284. Suo, S. Dopamine modulates acetylcholine release via octopamine and CREB signaling in *Caenorhabditis elegans* / Satoshi Suo, Shoichi Ishiura // PloS one. – 2013. – Vol. 8, № 8. – P. e72578.
285. Synthesis and activity of di- or trisubstituted N-(phenoxyalkyl)- or N-{2-[2-(phenoxy)ethoxy]ethyl}piperazine derivatives on the central nervous system / Katarzyna Pańczyk, Karolina Pytka, Magdalena Jakubczyk [et al.] // Bioorg Med Chem Lett. – 2018. – Vol. 28, № 11. – P. 2039-2049.
286. Synthesis and characterization of a novel γ -aminobutyric acid type A (GABAA) receptor ligand that combines outstanding metabolic stability, pharmacokinetics, and anxiolytic efficacy / Michael M. Poe, Kashi Reddy Methuku, Guanguan Li [et al.] // Journal of medicinal chemistry. – 2016. – Vol. 59, № 23. – P. 10800-10806.
287. Synthesis and computer-aided analysis of the role of linker for novel ligands of the 5-HT₆ serotonin receptor among substituted 1, 3, 5-triazinylpiperazines / Dorota Łażewska, Rafał Kurczab, Małgorzata Więcek [et al.] // Bioorganic chemistry. – 2019. – Vol. 84. – P. 319-325.
288. Synthesis and monoamine oxidase inhibitory activities of some 3-(4-fluorophenyl)-5-aryl-n-substituted-4, 5-dihydro-(1H)-pyrazole-1-carbothioamide derivatives / G. Ş. Koç, O. U. Tan, G. Uçar [et al.] // Drug research. – 2014. – Vol. 64, № 11. – P. 591-598.
289. Synthesis and Neurotropic Activity of New Heterocyclic Systems: Pyridofuro[3,2-d]pyrrolo[1,2-a]pyrimidines, Pyridofuro[3,2-d]pyrido[1,2-a]pyrimidines

- and Pyridofuro[3',2':4,5]pyrimido[1,2-a]azepines / Samvel N. Sirakanyan, Domenico Spinelli, Athina Geronikaki [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 11. – P. 3320.
290. Synthesis and pharmacological evaluation of novel 2,3,4,5-tetrahydro[1,3]diazepino[1,2-a]benzimidazole derivatives as promising anxiolytic and analgesic agents / Dmitriy V. Maltsev, Alexander A. Spasov, Pavel M Vassiliev [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 19. – P. 6049.
291. Synthesis of C-14 labeled GABAA $\alpha 2/\alpha 3$ selective partial agonists and the investigation of late-occurring and long-circulating metabolites of GABAA receptor modulator AZD7325 / Markus Artelsmair, Chungang Gu, Richard J. Lewis, Charles S. Elmore // *J Labelled Comp Radiopharm*. – 2018. – Vol. 61, № 5. – P. 415-426.
292. Synthesis, pharmacological and structural studies of 5-substituted-3-(1-arylmethyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridin-4-yl)-1H-indoles as multi-target ligands of aminergic GPCRs / Magda Kondej, Tomasz M. Wróbel, Andrea G. Silva [et al.] // *European journal of medicinal chemistry*. – 2019. – Vol. 180. – P. 673-689.
293. Systemic administration of ZLc-002 exerts anxiolytic-like effects by dissociation of nNOS from CAPON in adult mice / Li-Juan Zhu, Lei Chang, Hu-Jiang Shi, Na Li // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2020. – Vol. 523, № 2. – P. 299-306.
294. Syunyakov, T. S. Evaluation of the therapeutic efficacy and safety of the selective anxiolytic afobazole in generalized anxiety disorder and adjustment disorders: Results of a multicenter randomized comparative study of diazepam / T. S. Syunyakov, G. G. Neznamov // *Ter Arkh*. – 2016. – Vol. 88, № 8. – P. 73-86.
295. Tafet, G. E. Pharmacological Treatment of Anxiety Disorders: The Role of the HPA Axis / Gustavo E. Tafet, Charles B. Nemeroff // *Front Psychiatry*. – 2020. – Vol. 11. – P. 443.
296. Tert-butyl 4-((1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl) methyl) piperazine-1-carboxylate (LQFM104)–New piperazine derivative with antianxiety and antidepressant-like effects: Putative role of serotonergic system / Dayane Moreira da Silva, Germán Sanz, Boniek Gontijo Vaz [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2018. – Vol. 103. – P. 546-552.

297. The Consensus Ensemble Neural Network Multitarget Model of the RAGE Inhibitory Activity of Chemical Compounds / P. M. Vassiliev, A. A. Spasov, A. N. Kochetkov [et al.] // *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. – 2021. – Vol. 15, No. 4. – P. 281-289.
298. The drug candidate, ADX71441, is a novel, potent and selective positive allosteric modulator of the GABAB receptor with a potential for treatment of anxiety, pain and spasticity / Mikhail Kalinichev, Françoise Girard, Hasnaà Haddouk [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 114. – P. 34-47.
299. The effect and mechanism of Jiao-tai-wan in the treatment of diabetes mellitus with depression based on network pharmacology and experimental analysis / Yueheng Tang, Hao Su, Hongzhan Wang [et al.] // *Mol Med*. – 2021. – Vol. 27, № 1. – P. 154.
300. The GABAA-BZR Complex as Target for the Development of Anxiolytic Drugs / Maria Letizia Trincavelli, Eleonora Da Pozzo, Simona Daniele, Claudia Martini // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 254-269.
301. The global burden of anxiety disorders in 2010 / A. J. Baxter, T. Vos, K. M. Scott [et al.] // *Psychol Med*. – 2014. – Vol. 44, № 11. – P. 2363-2374.
302. The resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress / Jaap M. Koolhaas, Caroline M. Coppens, Sietse F. de Boer [et al.] // *Journal of Visualized Experiments*. – 2013. – № 77. – P. e4367.
303. The role of 5 HT6-receptor antagonists in Alzheimer's disease: an update / Rita Khoury, Noam Grysman, Jake Gold [et al.] // *Expert opinion on investigational drugs*. – 2018. – Vol. 27, № 6. – P. 523-533.
304. The role of the dynorphin/ κ opioid receptor system in anxiety / Ai Hang, Yu-jun Wang, Ling He, Jing-gen Liu // *Acta Pharmacol Sin*. – 2015. – Vol. 36, № 7. – P. 783-790.
305. The tail suspension test / Adem Can, David T. Dao, Chantelle E. Terrillion [et al.] // *J Vis Exp*. – 2012. – № 59. – P. e3769.
306. Therapeutic actions of translocator protein (18 kDa) ligands in experimental models of psychiatric disorders and neurodegenerative diseases / B. D. Arbo, F. Benetti,

L. M. Garcia-Segura, M. F. Ribeiro // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2015. – Vol. 154. – P. 68-74.

307. Time-dependent in-vivo effects of interleukin-2 on neurotransmitters in various cortices: relationships with depressive-related and anxiety-like behaviour / B. D. Karrenbauer, C. P. Müller, Y. J. Ho [et al.] // *Journal of neuroimmunology.* – 2011. – Vol. 237, № 1-2. – P. 23-32.

308. Tipton, K. F. 90 years of monoamine oxidase: some progress and some confusion / Keith F. Tipton // *J Neural Transm (Vienna).* – 2018. – Vol. 125, № 11. – P. 1519-1551.

309. Treatment with HC-070, a potent inhibitor of TRPC4 and TRPC5, leads to anxiolytic and antidepressant effects in mice / Stefan Just, Bertrand L. Chenard, Angelo Ceci [et al.] // *PloS one.* – 2018. – Vol. 13, № 1. – P. e0191225.

310. Troriluzole inhibits methamphetamine place preference in rats and normalizes methamphetamine-evoked glutamate carboxypeptidase II (GCPII) protein levels in the mesolimbic pathway / Sonita Wiah, Abigail Roper, Pingwei Zhao [et al.] // *Drug Alcohol Depend.* – 2023. – Vol. 242. – P. 109719.

311. Tu, C. H. The Effects of Acupuncture on Glutamatergic Neurotransmission in Depression, Anxiety, Schizophrenia, and Alzheimer's Disease: A Review of the Literature / Cheng-Hao Tu, Iona MacDonald, Yi-Hung Chen // *Front Psychiatry.* – 2019. – Vol. 10. – P. 14.

312. Tyurenkov, I. N. Functional aspects of neuroprotective effects of new salts and compositions of baclofen in the convulsive syndrome caused by electroshock / I. N. Tyurenkov, L. E. Borodkina, V. V. Bagmetova // *Bull Exp Biol Med.* – 2012. – Vol. 153, № 5. – P. 710-713.

313. UniProt. – Text : electronic // EMBL-EBI. National Institutes of Health. – Release, 2023. – URL: <https://www.uniprot.org/> (accessed: 29.11.2021).

314. Variation in Dopamine D2 and Serotonin 5-HT2A Receptor Genes is Associated with Working Memory Processing and Response to Treatment with Antipsychotics / Giuseppe Blasi, Pierluigi Selvaggi, Leonardo Fazio [et al.] // *Neuropsychopharmacology.* – 2015. – Vol. 40, № 7. – P. 1600-1608.

315. Vassiliev, P. M., Maltsev, D. V., Perfilev, M. A. et al. Compounds with anxiolytic activity. Certificate of state registration of the database RU2022621744 (Russia) // Official Bulletin of Federal Institute of Industrial Property “Computer Programs. Database. Topologies of integrated microchips”.
316. Vorobjev, V. S. Vibrodissociation of sliced mammalian nervous tissue / V. S. Vorobjev // *J Neurosci Methods*. – 1991. – Vol. 38, № 2-3. – P. 145-150.
317. Voronina, T. A. Vliianie fenazepama on sleep cycles in rats [Effect of phenazepam on sleep cycles in rats] / T. A. Voronina, L. N. Nerobkova // *Farmakol Toksikol*. – 1981. – Vol. 44, № 1. – P. 18-20.
318. Westenberg, H. G. Developments in the drug treatment of panic disorder: what is the place of the selective serotonin reuptake inhibitors? / H. G. Westenberg // *J Affect Disord*. – 1996. – Vol. 40, № 1-2. – P. 85-93.
319. Wilson, M. Clomipramine / Marcia Wilson, Jayson Tripp. – Text : electronic // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2022. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541006> (accessed: 29.12.2023).
320. Yap, C. Y. Involvement of 5-HT₂ receptors in the wet-dog shake behaviour induced by 5-hydroxytryptophan in the rat / C. Y. Yap, D. A. Taylor // *Neuropharmacology*. – 1983. – Vol. 22, № 7. – P. 801-804.
321. YL-0919, a dual 5-HT_{1A} partial agonist and SSRI, produces antidepressant-and anxiolytic-like effects in rats subjected to chronic unpredictable stress / Yu-Hua Ran, Xiao-Xu Hu, Yu-Lu Wang [et al.] // *Acta Pharmacologica Sinica*. – 2018. – Vol. 39, № 1. – P. 12-23.
322. Zaremba, M. Antipsychotic drugs efficacy in dextromethorphan-induced psychosis / Malgorzata Zaremba, Pawel Serafin, Patrycja Kleczkowska // *Biomedicines*. – 2023. – Vol. 11, № 1. – P. 123.
323. Zoicas, I. The Role of Metabotropic Glutamate Receptors in Social Behavior in Rodents / Iulia Zoicas, Johannes Kornhuber // *Int J Mol Sci*. – 2019. – Vol. 20, № 6. – P. 1412.

324. $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors on dopaminergic neurons mediate nicotine reward and anxiety relief / Tresa M. McGranahan, Natalie E. Patzlaff, Sharon R. Grady [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2011. – Vol. 31, № 30. – P. 10891-10902.
325. Анализ взаимодействия производного диазепино[1,2-а]бензимидазола соединения ДАБ-21 с основными лигандами нейромедиаторных систем / Д. В. Мальцев, А. А. Спасов, М. В. Мирошников [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2021. – № 1(77). – С. 131-136.
326. Анксиолитическая активность нового производного диазепино[1,2-а]бензимидазола соединения ДАБ-19 / М. В. Мирошников, Д. В. Мальцев, А. А. Спасов [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83, № 10. – С. 3-8.
327. Анксиолитическая активность производных 11Н-2,3,4,5-тетрагидро[1,3] diazepino[1,2-а]бензимидазола и 2-меркаптобензимидазола / А. А. Спасов, О. Н. Жуковская, Д. В. Мальцев [и др.] // Биоорганическая химия. – 2020. – Т. 46, № 1. – С. 92-100.
328. Анксиолитический потенциал нового ряда производных диазепинобензимидазола / А. А. Спасов, Л. Н. Диваева, Д. В. Мальцев [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2018. – № 3(67). – С. 19-23.
329. Антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин снимает тревожно-фобические состояния у крыс, выращенных в социальной изоляции / А. А. Лебедев, А. Г. Пшеничная, Е. Р. Бычков [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14, № 4. – С. 24-31.
330. Антидепрессивная активность и потенциальные механизмы действия производного диазепинобензимидазола ДАБ-19 / А. А. Спасов, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83, № 4. – С. 31-36.
331. Арушанян, Э. Б. Сравнительная оценка эпифизарного мелатонина и бензодиазепиновых анксиолитиков / Э. Б. Арушанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75, № 3. – С. 35-40.

332. Беленький, М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – 2-е изд., перераб. и доп. – Ленинград : Медицина, 1963. – 152 с.
333. Биологический скрининг природных соединений и их производных с применением PASS-прогнозирования / А. К. Даиров, М. А. Романова, Р. Б. Сейдахметова [и др.] // Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География. – 2015. – Т. 80, № 4. – С. 10-16.
334. Влияние антагониста рецепторов кортиколиберина астрессина на агрессию и тревожно-фобические состояния у самцов крыс, выращенных в социальной изоляции / А. А. Лебедев, А. Г. Пшеничная, Н. Д. Якушина [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, № 3. – С. 38-47.
335. Влияние фенамина на поведенческие компоненты обсессивно-компульсивного и аддиктивного игрового поведения в тесте закапывания шариков у крыс / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев, Н. Д. Якушина [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14, № 3. – С. 46-52.
336. Воронина, Т. А. Перспективы поиска новых анксиолитиков / Т. А. Воронина, С. Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, № 5. – С. 4-17.
337. Гиполипидемическое, антиоксидантное и эндотелиопозитивное действие нового агониста рецептора GPR 119 соединения ZB-16 при экспериментальном сахарном диабете / И. Н. Тюренков, Д. В. Куркин, Д. А. Бакулин [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80, № 1. – С. 18-23.
338. Дробижев, М. Ю. Патогенетическая фармакотерапия фобических тревожных расстройств и состояний, обусловленных стрессом / М. Ю. Дробижев, А. В. Федотова, С. В. Кикта // Профилактическая медицина. – 2013. – Т. 16, № 4. – С. 34-39.
339. Живолупов, С. А. Основные направления в оптимизации лечения болевых синдромов у неврологических больных: нейрофизиологический анализ, топико-

- нозологическая интерпретация, алгоритм формирования болезньюмодифицирующей комплексной терапии / С. А. Живолупов, И. Н. Самарцев, Е. В. Яковлев // *Consilium Medicum*. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 15-23.
340. Изучение анксиолитической активности в ряду новых производных диазепинобензимидазола на установке "Приподнятый крестообразный лабиринт" / А. С. Таран, Д. В. Мальцев, Д. С. Яковлев [и др.] // *Волгоградский научно-медицинский журнал*. – 2017. – № 1(53). – С. 24-26.
341. Изучение анксиолитической активности новых производных диазепинобензимидазола под шифром ДАБ-21 и ДАБ-31 / М. В. Мирошников, Л. Н. Диваева, В. А. Анисимова [и др.] // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 160-161.
342. Изучение ГАМК-ергических механизмов нейропсихотропного действия нейроглутама / И. Н. Тюренков, В. В. Багметова, А. И. Робертус [и др.] // *Нейрохимия*. – 2015. – Т. 32, № 2. – С. 140-152.
343. Ковалев, Г. В. Ноотропные средства / Г. В. Ковалев. – Волгоград : Нижне-Волжское книжное издательство, 1990. – 368 с. – ISBN 5-7610-0329-5.
344. Ковалев, Г. И. Сравнение поведения мышей в тестах открытого поля, закрытого и приподнятого крестообразных лабиринтов с помощью факторного анализа / Г. И. Ковалев, Е. В. Васильева, Р. М. Салимов // *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. – 2019. – Т. 69, № 1. – С. 123-130.
345. Компьютерное предсказание биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика / В. В. Поройков, Д. А. Филимонов, Т. А. Глориозова [и др.] // *Информационный вестник ВОГиС*. – 2009. – Т. 13, № 1. – С. 137-143.
346. Ладыженский, М. Я. Бензодиазепиновые анксиолитики: востребованы ли они сегодня? / М. Я. Ладыженский, А. В. Городничев, Е. Г. Костюкова // *Современная терапия психических расстройств*. – 2014. – № 2. – С. 20-25.
347. Малкова, Е. Е. Тревога как ресурс адаптивного развития личности / Е. Е. Малкова // *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 16. Психология. Педагогика*. – 2014. – № 2. – С. 34-40.

348. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств / Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, М. А. Яркова, М. В. Воронин // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. – Москва, 2012. – С. 264-275.
349. Методические рекомендации по изучению нейролептической активности лекарственных средств / сост.: Р. У. Островская, К. С. Раевский, Т. А. Воронина [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздравсоцразвития России. Часть 1. – Москва, 2012. – С. 251-263.
350. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств / сост.: Е. В. Арзамасцев, И. В. Березовская, О. Л. Верстакова [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I. – Москва, 2012. – С. 13-24.
351. Методические указания по изучению антидепрессантной активности фармакологических веществ / сост. Н. И. Андреева // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2005. – С. 244-253.
352. Мнемотропная и анксиолитическая активность мексидола и эноксифола / И. А. Трегубова, В. А. Косолапов, А. А. Спасов, В. А. Анисимова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2015. – № 4. – С. 10.
353. Моделирование обсессивно-компульсивного и аддиктивного игрового поведения у крыс введением фенамина в тесте закапывания шариков / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев, Н. Д. Якушина [и др.] // Наркология. – 2017. – Т. 16, № 1(181). – С. 32-38.
354. Незнанов, Н. Г. Диагностика и терапия тревожных расстройств в Российской Федерации: результаты опроса врачей-психиатров / Н. Г. Незнанов, И. А. Мартынихин, С. Н. Мосолов // Современная терапия психических расстройств. – 2017. – № 2. – С. 2-13.

355. Нейролептикоподобная активность трипептоидного аналога нейротензина ГЗР-123 / Л. С. Гузеватых, Р. У. Островская, Т. А. Гудашева [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, № 1. – С. 3-6.
356. Нейропсихотропная активность новых производных диазепинобензимидазола под шифрами QLR - 9 и QLR - 10 / М. О. Скрипка, А. В. Гонтарева, Е. А. Золотова [и др.] // Молодежь - практическому здравоохранению : материалы XII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых-медиков, Тверь, 18 мая 2018 года. – Тверь, 2018. – С. 909-913.
357. Нейрорецепторные эффекты антимигренозного агента 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил)имидазо[1,2-А] бензимидазола / Я. В. Агацарская, Д. С. Яковлев, Д. В. Мальцев [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2019. – № 1(69). – С. 120-124.
358. Нейротоксикологические свойства препарата "Бендазол" / Л. И. Бугаева, Е. А. Кузубова, М. В. Букатин, А. А. Спасов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2012. – № 2(42). – С. 83-86.
359. Нейротоксикологические свойства соединения РУ-891 с антитромбогенной активностью / А. А. Спасов, А. Ф. Кучерявенко, Д. В. Мальцев [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2019. – № 3(71). – С. 116-119.
360. Нейрохимический механизм антидепрессивного действия нового производного аденина / Д. Г. Ковалев, И. А. Зимин, Л. А. Смирнова, А. Ф. Рябуха // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 12. – С. 13-16.
361. Обратные агонисты гистаминовых H3-рецепторов: экспериментальные исследования и перспективы клинического применения / Н. В. Кудряшов, Г. В. Набиева, Т. С. Калинина [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т. 82, № 10. – С. 36-43.
362. Основные результаты доклинического изучения субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокс)этил]аденина, обладающего психотропной активностью / В. И.

Петров, А. А. Озеров, М. С. Новиков [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 13.

363. Особенности пробоподготовки для метода высокоэффективной жидкостной хроматографии количественного определения малорастворимых соединений / Л. А. Смирнова, А. А. Озеров, Е. А. Сучков [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2013. – № 2(38). – С. 14-16.

364. Оценка миорелаксирующих свойств в ряду новых производных 2, 3 - бензодиазепина / М. В. Мирошников, К. Т. Султанова, М. О. Скрипка [и др.] // Молодежь, наука, медицина : материалы 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием, Тверь, 17-18 апреля 2019 года. – Тверь, 2019. – С. 661-663.

365. Патент № 2629022 С1 Российская Федерация, МПК С07D 487/04, А61К 31/551. 11-(4-трет-Бутилбензил)- и фенацилзамещённые 2, 3, 4, 5-тетрагидро[1, 3]дiazепино [1, 2-а]бензимидазола, обладающие анксиолитической активностью : № 2016140595 : заявл. 14.10.2016 : опубл. 24.08.2017 / Л. Н. Диваева, А. А. Спасов, В. И. Петров [и др.] ; заявитель ФГАОУ ВО "Южный федеральный университет", ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный медицинский университет" Минздрава РФ.

366. Патент № 2636785 С1 Российская Федерация, МПК С07D 487/04, А61К 31/551, А61Р 29/00. Гидрогалогенид 1-(3,4-диметоксифенил)-2-(7,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазол-11-ил)этанона, обладающий обезболивающей и анксиолитической активностью : № 2016145524 : заявл. 21.11.2016 : опубл. 01.12.2017 / Л. Н. Диваева, А. А. Спасов, Д. В. Мальцев [и др.] ; заявитель ФГАОУ ВО "Южный федеральный университет", ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный медицинский университет" Минздрава РФ.

367. Патент № 2662242 С1 Российская Федерация, МПК С07D 487/04, А61К 31/551. Гидробромид 11-(4-трет-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола, обладающий анксиолитической и противосудорожной активностью : № 2017126800 : заявл. 25.07.2017 : опубл. 25.07.2018 / Л. Н. Диваева, А. А. Спасов, Т. А. Кузьменко [и др.] ; заявитель

ФГАОУ ВО "Южный федеральный университет", ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный медицинский университет" Минздрава РФ.

368. Патент № 2757476 С2 Российская Федерация, МПК С07К 5/062, А61К 38/05, А61Р 25/00. Лейцилтриптофановые лиганды ТSPO, обладающие анксиолитической активностью : № 2020113978 : заявл. 14.04.2020 : опубл. 18.10.2021 / С. Б. Середенин, О. А. Деева, М. А. Яркова, Т. А. Гудашева ; заявитель ФГБ НУ "Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова".

369. Патент № 2792888 С1 Российская Федерация, МПК С07D 239/60, С07D 417/04, С07D 403/12. 2-Замещенные 5-(гетеро)алкил-6-гидроксипиримидин-4(1H)-оны, обладающие антидепрессантной активностью : № 2021135561 : заявл. 03.12.2021 : опубл. 28.03.2023 / И. А. Новаков, И. Н. Тюренков, Н. С. Ковалев [и др.] ; заявитель ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный технический университет", ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный медицинский университет" Минздрава РФ.

370. Перфилова, В. Н. Глутаматергическая и сердечно-сосудистая системы / В. Н. Перфилова, И. Н. Тюренков. – Волгоград : Волгоградский государственный медицинский университет, 2020. – 212 с. – ISBN 978-5-9652-0486-1.

371. Петров, В. И. Симуляция психических расстройств в судебно-психиатрической практике / В. И. Петров, В. И. Мурзич // Борьба с преступностью: теория и практика : материалы II Международ. научно-практ. конференции, Могилев, 27 февраля 2014 года. – Могилев, 2014. – С. 53-55.

372. Поведенческое фенотипирование крыс при экспериментальном моделировании хронического нарушения мозгового кровообращения / Д. В. Куркин, Е. И. Морковин, Д. В. Верхоляк [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, № 7. – С. 69-73.

373. Поиск анксиолитических средств в ряду новых производных ГАМК и глутаминовой кислоты / В. В. Багметова, Л. Е. Бородкина, И. Н. Тюренков [и др.] // Современные проблемы химической науки и фармации : сборник материалов

Всерос. конф., Чебоксары, 3-4 апреля 2014 г. – Чебоксары : ПЕГАС, 2014. – С. 131-132.

374. Поиск взаимосвязи между анксиолитическим действием оригинального производного пирроло [1,2-А] пиразина, лиганда TSP0 - ГМЛ-1 и его концентрациями в плазме крови крыс / М. А. Яркова, А. А. Литвин, Г. Б. Колыванов [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2018. – № 2. – С. 52-58.

375. Производные имидазо[1,2-а]бензимидазола как антагонисты 5-НТ2-рецепторов / А. А. Спасов, Д. С. Яковлев, Д. В. Мальцев [и др.] // Биоорганическая химия. – 2016. – Т. 42, № 4. – С. 440-447.

376. Разработка метода количественного определения нового производного гамма-аминомасляной кислоты в биологических пробах / Л. А. Смирнова, А. Ф. Рябуха, К. А. Кузнецов [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2013. – № 2(38). – С. 17-19.

377. Разработка методики количественного определения производного ГАМК салифена / Л. А. Смирнова, А. Ф. Рябуха, К. А. Кузнецов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 11. – С. 62-64.

378. Расчет характеристик дискриминантной функции для разделения животных на фенотипические группы по времени гексеналового сна / Д. А. Козочкин, А. А. Болотов, В. Э. Цейликман [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 1. – С. 130.

379. Рецептор-зависимые механизмы противосудорожного действия производного бензимидазола РУ-1205 в сравнении с диазепамом и U-50,488Н / А. А. Спасов, О. Ю. Гречко, К. Ю. Калитин, В. А. Анисимова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 2. – С. 3-6.

380. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздравсоцразвития России ; отв. ред. А. Н. Миронов. Часть 1. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с. – ISBN 978-5-8125-1466-3.

381. Сажин, В. А. Изучение пространственной памяти животных с помощью радиального лабиринта в психофармакологии и нейротоксикологии / В. А. Сажин, Г. В. Ковалев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1993. – Т. 56, № 2. – С. 72-74.
382. Семьянов, А. В. Нейрон-глиальное взаимодействие в мозге / А. В. Семьянов, В. Б. Казанцев. – Нижний Новгород : Издательство Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, 2007. – 107 с.
383. Середенин, С. Б. Современная фармакотерапия эмоционально-стрессовых расстройств / С. Б. Середенин, Т. А. Воронина // Вестник эстетической медицины. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 32-40.
384. Синтез и противосудорожная активность производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов / Л. А. Жмуренко, Т. А. Воронина, С. А. Литвинова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52, № 1. – С. 19-28.
385. Смирнов, О. Р. Психическая и соматическая тревога у пожилых, страдающих деменцией / О. Р. Смирнов // Социальная и клиническая психиатрия. – 2010. – Т. 20, № 4. – С. 26-30.
386. Современные подходы к поиску анксиолитических средств / Д. В. Мальцев, А. А. Спасов, М. В. Мирошников, М. О. Скрипка // Биоорганическая химия. – 2021. – Т. 47, № 4. – С. 431-463.
387. Спектр психофармакологических свойств новых производных [4-оксохиназолин-3(4H)-ил]уксусной кислоты / Ю. В. Арчакова, Е. Г. Глухова, Е. Н. Шматова [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2016. – № 3. – С. 9-12.
388. Сравнительное изучение спектра психотропной активности имидазольных производных ГАМК и глутаминовой кислоты / Л. Е. Бородкина, И. Н. Тюренков, А. В. Воронков [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 12. – С. 36-37.
389. Старостина, Е. Г. Тревога и тревожные расстройства в практике кардиолога / Е. Г. Старостина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 111-120.

390. Структура и биологическая активность эндогенных и синтетических агонистов рецептора GPR119 / И. Н. Тюренков, А. А. Озеров, Д. В. Куркин [и др.] // Успехи химии. – 2018. – Т. 87, № 2. – С. 151-166.
391. Сюняков, Т. С. Механизмы ангиогенеза и терапия тревоги / Т. С. Сюняков, С. А. Сюняков, О. А. Дорофеева // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 9-15.
392. Терапия антидепрессантами и другие методы лечения депрессивных расстройств : Доклад Рабочей группы CINP на основе обзора доказательных данных. Перевод с английского / Н. Сарториус, Б. Барретт, П. Баумана [и др.] ; Российское общество психиатров. – Москва : [б. и.], 2008. – 215 с.
393. Тюренков, И. Н. Влияние нейроглутама на общее состояние и поведение мышей при стрессе, вызванном повторными истощающими физическими нагрузками / И. Н. Тюренков, В. В. Багметова, Ю. В. Маркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80, № 2. – С. 8-13.
394. Фармакологический анализ механизмов действия производного хиноксалина с анксиолитической активностью / М. О. Скрипка, Д. В. Мальцев, А. А. Спасов, М. А. Перфильев // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 19, № 3. – С. 134-140.
395. Черников, М. В. Исследование зависимости 5-НТ2-и 5-НТ3-антисеротониновой активности би- и трициклических производных бензимидазола от их физико-химических свойств / М. В. Черников, П. М. Васильев // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. Вып. 70. – Пятигорск, 2015. – С. 260-262.
396. Экспериментальное исследование нового анксиолитика транквиридина / П. Д. Шабанов, А. И. Морозов, А. А. Лебедев [и др.] // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 5-14.
397. Якимова, Н. Л. Дофамин-зависимое нарушение поведения белых крыс с интоксикацией сулемой в тесте экстраполяционного избавления / Н. Л. Якимова, Л. М. Соседова // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского

отделения Российской академии медицинских наук. – 2013. – № 1(89). – С. 130-133.

Приложение А (информационное)

Таблица А.1 – Коэффициент вероятности наличия основных психотропных активностей (Pa-Pi) для ряда соединений под шифром ДАБ. *Примечание:* зеленым цветом выделены коэффициенты более 0,5, соответствующие сильной корреляции; желтым цветом – от 0,3 до 0,5, соответствующие средней корреляции

№ п/п	Шифр	Прогнозный потенциал соединения						
		Анальгетический		Противосудорожный	Антидепрессивный	Нормотимический	Антинейродегенеративный	Ноотропный
		Неопионидный	Опиоидный					
1	ДАБ-1	-0,2129	-0,1017	0,2564	0,5445	0,5503	0,1447	0,3169
2	ДАБ-4	-0,3032	-0,1895	0,4748	0,4436	0,4414	-0,1179	0,2049
3	ДАБ-5	-0,4567	-0,2125	0,0542	-0,0039	-0,0070	-0,3246	0,1502
4	ДАБ-7	-0,2089	-0,3631	0,0033	0,0812	0,0832	-0,1102	-0,0790
5	ДАБ-9	-0,5272	-0,1564	0,1791	0,3895	0,3880	-0,1031	0,2806
6	ДАБ-13	-0,2223	-0,3139	0,1315	0,5493	0,5483	-0,1081	-0,1757
7	ДАБ-14	-0,4482	-0,2855	-0,1398	0,5452	0,5452	-0,0910	-0,0698
8	ДАБ-15	0,0116	-0,2322	0,0535	0,3857	0,3967	0,1393	0,2466
9	ДАБ-16	-0,5355	-0,1777	0,4204	0,3533	0,3472	-0,2648	0,1444
10	ДАБ-17	-0,5556	-0,1661	0,1175	0,3498	0,3505	-0,1191	0,2414
11	ДАБ-18	-0,6150	-0,0992	0,0785	0,1654	0,1667	-0,0946	0,2290
12	ДАБ-19	-0,0395	-0,1975	0,0429	0,1233	0,1248	-0,1469	-0,0656
13	ДАБ-20	-0,4918	-0,0024	0,3600	0,4694	0,4710	0,0460	-0,0846
14	ДАБ-21	-0,2389	-0,0804	0,1517	0,7906	0,7852	0,1756	0,0919
15	ДАБ-22	-0,2088	-0,0515	0,1616	0,7737	0,7676	0,1738	0,1053
16	ДАБ-23	-0,1853	-0,1154	0,2516	0,7092	0,7050	0,1923	0,0413
17	ДАБ-24	-0,1417	-0,4040	0,1134	0,2537	0,2604	-0,1059	0,1209
18	ДАБ-25	-0,1467	-0,3104	-0,0029	0,5971	0,6015	0,0137	0,0709
19	ДАБ-26	-0,1743	-0,2541	-0,0164	0,3299	0,3309	-0,2363	-0,2674
20	ДАБ-27	0,0766	-0,3240	0,0235	0,3041	0,3151	0,0964	0,1887
21	ДАБ-28	-0,0080	-0,2572	0,0041	0,2680	0,2795	0,0642	0,0881
22	ДАБ-29	0,0535	-0,3427	-0,0250	0,1940	0,2025	0,0210	0,0321
23	ДАБ-30	0,4736	-0,0552	0,1219	0,7212	0,7265	0,4867	0,7491
24	ДАБ-32	-0,2267	-0,2104	0,3200	0,3811	0,3833	-0,0602	0,2830
25	ДАБ-33	-0,1771	-0,2820	-0,0824	0,2547	0,2539	-0,2790	-0,4097
26	ДАБ-34	-0,1843	-0,1388	0,2119	0,5692	0,5677	0,1091	-0,1330
27	ДАБ-35	-0,5554	-0,2393	0,0145	0,0105	0,0046	-0,4283	-0,3233
28	ДАБ-36	-0,0860	-0,2609	0,1394	0,2176	0,2215	-0,0653	-0,1562
29	ДАБ-37	-0,2452	-0,1100	0,3279	0,0585	0,0673	0,6309	0,5465
30	ДАБ-38	-0,2305	-0,1100	0,1027	0,6429	0,6375	0,0795	-0,0774
31	ДАБ-40	-0,0375	-0,1466	0,1642	0,3713	0,3776	0,0309	-0,0227
32	ДАБ-41	-0,0743	-0,2361	0,1934	0,3301	0,3350	0,0090	0,0143
33	ДАБ-43	0,0628	-0,4152	0,1178	0,3042	0,3178	0,0051	0,2281
34	ДАБ-44	0,0425	-0,4112	0,0643	0,2052	0,2169	-0,0553	0,0655
35	ДАБ-45	-0,3531	-0,2366	0,1904	0,1625	0,1548	-0,3474	-0,0923
36	ДАБ-46	-0,1772	-0,0431	0,3717	0,0890	0,1048	0,6216	0,5511
37	ДАБ-47	0,3067	-0,2463	0,5868	0,4355	0,4511	0,7019	0,6904
38	ДАБ-48	0,0841	-0,2276	0,5527	0,3768	0,3793	0,7112	0,6081
39	ДАБ-49	-0,1808	-0,0717	0,3282	0,0004	0,0137	0,5584	0,4241
40	ДАБ-50	0,2660	-0,2724	0,5515	0,3057	0,3165	0,6470	0,5923

Таблица А.2 – Коэффициент вероятности наличия основных психотропных активностей (Pa-Pi) для ряда соединений под шифром РД

№ п/п	Шифр	Прогнозный потенциал соединения						
		Анальгетический		Противосудорожный	Антидепрессивный	Нормотимический	Антинейродегенеративный	Ноотропный
		Неопиоидный	Опиоидный					
1	РД-1	-0,1894	-0,8724	-0,7753	-0,2977	-0,4624	-0,2756	-0,3795
2	РД-2	-0,1577	-0,7444	-0,6571	0,1477	-0,1288	-0,3979	-0,0016
3	РД-3	-0,1420	-0,5384	-0,5940	0,4512	-0,0834	-0,3150	0,0907
4	РД-4	-0,4008	-0,8704	-0,5708	0,1465	-0,0363	-0,2074	0,7560
5	РД-5	-0,0618	-0,8193	-0,6495	-0,0229	-0,4467	-0,7043	-0,2476
6	РД-6	-0,0457	-0,6238	-0,5076	0,1836	-0,3048	-0,4967	0,2206
7	РД-7	-0,3201	-0,6429	-0,5423	-0,4212	-0,3675	-0,5478	-0,5192
8	РД-8	0,1424	-0,2717	-0,7753	0,4440	0,6411	-0,0811	0,6092
9	РД-9	-0,1378	-0,8547	-0,7923	-0,2461	-0,4488	-0,2704	-0,3505
10	РД-10	0,0414	-0,7808	-0,5736	0,4579	0,1836	-0,2086	0,5094
11	РД-11	-0,2162	-0,7080	-0,5543	0,1671	-0,2209	-0,3907	0,0276
12	РД-12	-0,4195	-0,3976	-0,7567	0,3305	0,0517	-0,3061	0,4602
13	РД-13	-0,1080	-0,8355	-0,6596	0,2187	0,0650	-0,2819	0,0766
14	РД-14	-0,1388	-0,8525	-0,6471	0,1751	-0,1164	-0,3994	0,2893
15	РД-15	-0,3371	-0,7798	-0,9478	-0,2874	0,6540	-0,4809	-0,8689

Примечание: зеленым цветом выделены коэффициенты более 0,5, соответствующие сильной корреляции; желтым цветом – от 0,3 до 0,5, соответствующие средней корреляции

Таблица А.3 – Коэффициент вероятности наличия основных психотропных активностей (Pa-Pi) для ряда соединений под шифром АЖ

№ п/п	Шифр	Прогнозный потенциал соединения						
		Анальгетический		Противосудорожный	Антидепрессивный	Нормотимический	Антинейродегенеративный	Ноотропный
		Неопиоидный	Опиоидный					
1	АЖ-53	-0,5892	-0,7226	-0,1281	-0,0518	-0,2655	-0,3621	0,0928
2	АЖ-54	-0,5792	-0,5968	-0,1498	-0,2992	-0,2078	-0,2038	-0,1243
3	АЖ-55	-0,6633	-0,4970	-0,1226	-0,1674	-0,2505	-0,2713	-0,2134
4	АЖ-56	-0,4026	-0,1519	-0,0765	-0,1276	0,0962	-0,0632	-0,0625
5	АЖ-57	-0,6514	-0,1868	-0,1942	-0,0698	0,0199	-0,0729	-0,0646
6	АЖ-61	0,0842	-0,7429	-0,3362	-0,1533	-0,6953	-0,7961	-0,4154
7	АЖ-62	-0,6879	-0,8059	-0,3298	-0,6230	-0,5703	-0,6137	0,4530
8	АЖ-63	-0,1836	-0,6551	-0,2917	-0,3596	-0,5373	-0,5922	-0,4178

Примечание: зеленым цветом выделены коэффициенты более 0,5, соответствующие сильной корреляции; желтым цветом – от 0,3 до 0,5, соответствующие средней корреляции

Таблица А.4 – Коэффициент вероятности наличия основных психотропных активностей (Pa-Pi) для ряда соединений под шифром БИФ

№ п/п	Шифр	Прогнозный потенциал соединения						
		Анальгетический		Противосудорожный	Антидепрессивный	Нормотимический	Антинейродегенеративный	Ноотропный
		Неопиоидный	Опиоидный					
1	БИФ-59	-0,0688	-0,2710	-0,2011	0,0146	0,1104	0,3267	0,0254
2	БИФ-60	-0,3638	-0,2374	-0,2399	-0,1165	-0,1193	0,0275	-0,1698
3	БИФ-66	-0,1399	-0,3056	-0,2888	-0,1589	-0,2506	-0,1096	-0,2230
4	БИФ-69	-0,4642	-0,2524	-0,4521	0,0129	0,2544	0,3248	0,0715

Примечание: зеленым цветом выделены коэффициенты более 0,5, соответствующие сильной корреляции; желтым цветом – от 0,3 до 0,5, соответствующие средней корреляции

Таблица А.5 – Коэффициент вероятности наличия основных психотропных активностей (Pa-Pi) для ряда соединений под шифром ЗДМ

№ п/п	Шифр	Прогнозный потенциал соединения						
		Анальгетический		Противосудорожный	Антидепрессивный	Нормотимический	Антинейродегенеративный	Ноотропный
		Неопиоидный	Опиоидный					
1	ЗДМ-3	-0,6539	-0,2226	-0,3421	-0,2567	0,2017	0,2387	-0,4864
2	ЗДМ-4	-0,3523	-0,1497	-0,3335	-0,3192	0,2335	0,3203	-0,4019
3	ЗДМ-5	-0,6665	-0,4064	-0,4372	-0,3508	0,0196	0,0906	-0,5544
4	ЗДМ-6	-0,3000	-0,3473	-0,4068	-0,5441	-0,1291	-0,1393	-0,6658
5	ЗДМ-7	-0,5701	-0,5974	-0,4666	-0,4672	-0,0572	-0,0118	-0,7640
6	ЗДМ-8	-0,3137	-0,2725	-0,4861	-0,0578	0,4520	0,4775	-0,4641
7	ЗДМ-10	-0,4397	-0,0005	-0,2873	-0,1725	0,2560	0,3732	-0,3237
8	ЗДМ-81	-0,5879	-0,0021	-0,3081	-0,3351	0,0627	0,1516	-0,4709
9	ЗДМ-84	-0,5701	-0,5974	-0,4666	-0,4672	-0,0572	-0,0118	-0,7640
10	ЗДМ-85	-0,7588	-0,5267	-0,6299	-0,6543	0,1471	0,2431	-0,2680
11	ЗДМ-86	-0,0173	-0,3089	-0,4110	-0,1729	0,0504	0,1492	-0,7229
12	ЗДМ-96	-0,5432	-0,3070	-0,1771	-0,5245	0,0139	0,1431	-0,4051
13	ЗДМ-97	-0,5283	-0,2620	-0,3185	-0,2043	0,0971	0,1983	-0,3934
14	ЗДМ-98	-0,5858	-0,1430	-0,3712	-0,4601	0,1259	0,2014	-0,4001
15	ЗДМ-99	-0,7807	-0,4097	-0,4811	-0,4975	-0,0356	0,0706	-0,5549

Примечание: зеленым цветом выделены коэффициенты более 0,5, соответствующие сильной корреляции; желтым цветом – от 0,3 до 0,5, соответствующие средней корреляции

Таблица А.6 - Химические структуры ряда производных 2-меркаптобензимидазола

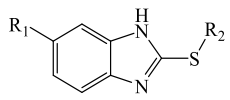
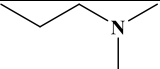
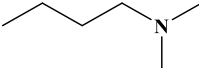
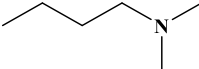
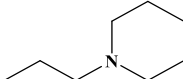
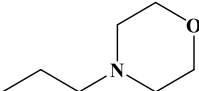
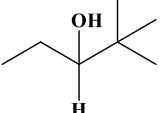
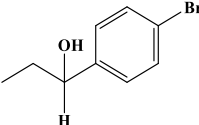
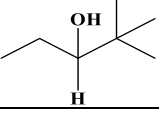
№	Шифр	 меркаптобензимидазол		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
1	АЖ-53	-O-CH ₃		2HCl	323,8
2	АЖ-54	-O-CH ₃		2HBr	427
3	АЖ-55	-O-CH ₂ -CH ₃		2HBr	441
4	АЖ-56	-CH ₃		2HCl	347,8
5	АЖ-57	-CH ₃		2HCl	349,8
6	АЖ-61	-		HCl	286,4
7	АЖ-62	-O-CH ₃		HCl	420,4
8	АЖ-63	-O-CH ₃		HCl	316,4

Таблица А.7 - Химические структуры ряда производных 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина

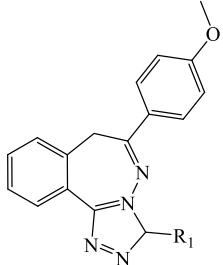

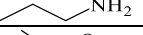

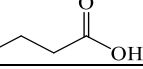

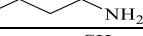
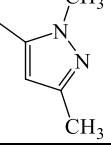

№	Шифр	 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепин	nX	Молекулярная масса
		R ₁		
1	РД-2		-	354.84
2	РД-3		-	406.32
3	РД-4		-	392.85
4	РД-5		-	398.85
5	РД-10		-	402.89
6	РД-11		-	420.34
7	РД-12		-	420.9
8	РД-13	CH ₃	-	340.81
9	РД-14		-	392.29

Таблица А.8 - Химические структуры ряда производных 5H-2,3-бензодиазепина

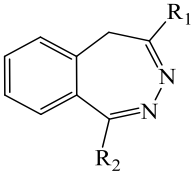
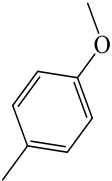
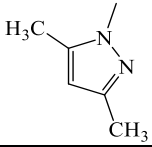
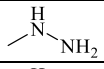
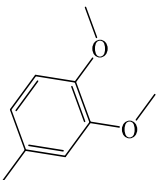
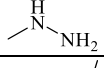
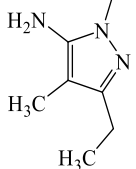
№	Шифр	 5H-2,3-бензодиазепин		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
10	РД-6			-	382.9
11	РД-9			-	316.79
12	РД-1			-	346.82
13	РД-7			-	441.96

Таблица А.9 - Химические структуры ряда производных триазепина

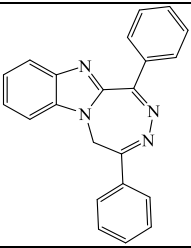
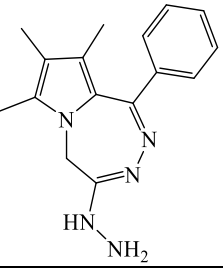
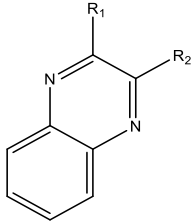
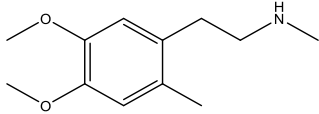
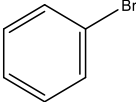
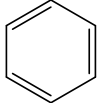
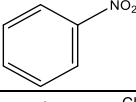
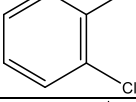
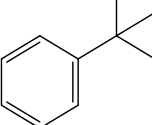
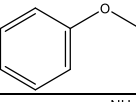
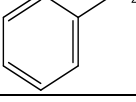
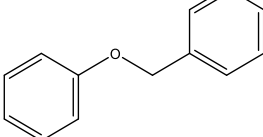
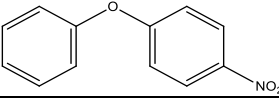
№	Шифр	Химическая структура	nX	Молекулярная масса
14	РД-8		-	372.86
15	РД-15		-	317.82

Таблица А.10 - Химические структуры нового ряда производных хиноксалина

№	Шифр	 хиноксалин		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
1	ЗДМ-3			HBr	573.33
2	ЗДМ-4			HBr	493.43
3	ЗДМ-5			(COOH) ₂	548.55
4	ЗДМ-10			HBr	563.32
5	ЗДМ-81			HCl	506.09
6	ЗДМ-96			2HCl	502.44
7	ЗДМ-97			2HCl	501.44
8	ЗДМ-98			-	519.65
9	ЗДМ-99			-	550.62

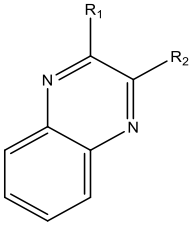
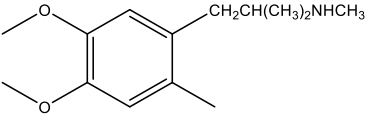
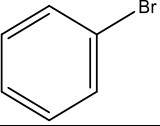
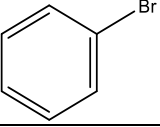
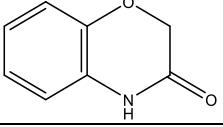
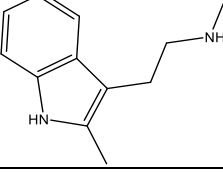
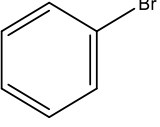
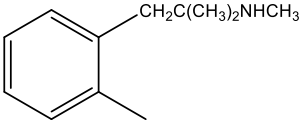
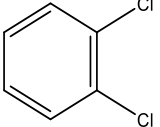
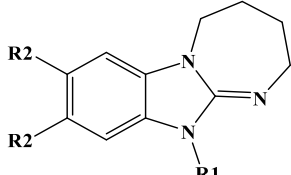
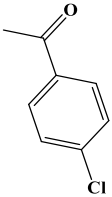
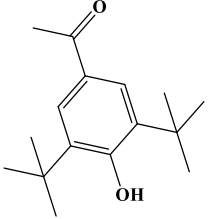
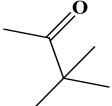
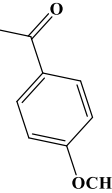
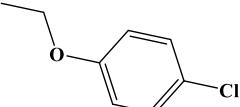
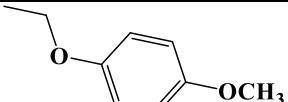
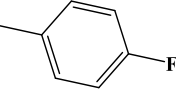
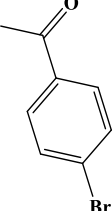
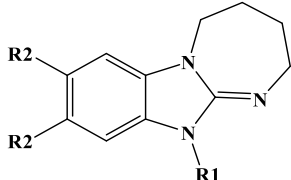
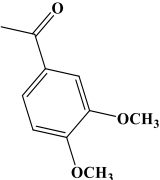
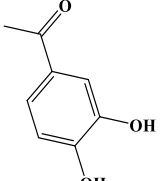
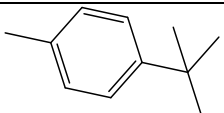
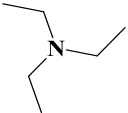
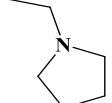
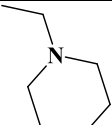
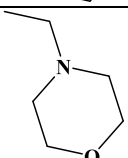
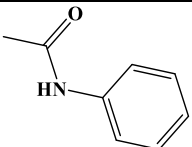
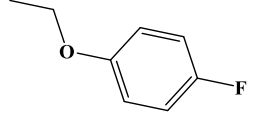
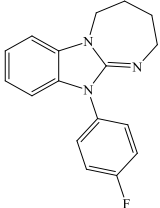
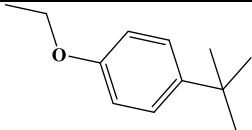
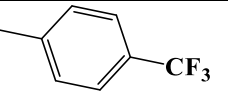
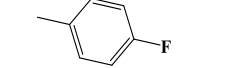
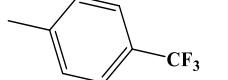
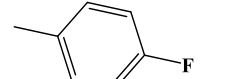
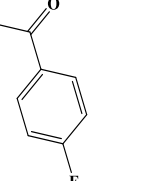
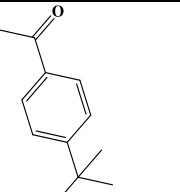
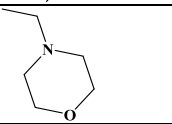
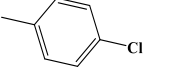
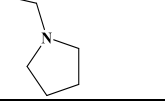
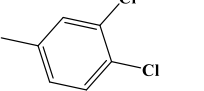
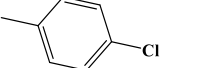
№	Шифр	 хиноксалин		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
10	ЗДМ-6		CH ₃	HCl	416.97
11	ЗДМ-7			HCl	497.89
12	ЗДМ-84			-	520.47
13	ЗДМ-85			-	512.24
14	ЗДМ-8			-	471.40
15	ЗДМ-86			HBr	531.32

Таблица А.11 - Химические структуры ряда производных 11H-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола

№	Шифр	 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
1	ДАБ-1	CH ₃	-	HI	329.19
2	ДАБ-4		-	HBr	420.76
3	ДАБ-5		-	HBr	514,53
4	ДАБ-7		-	HBr	366,32
5	ДАБ-9		-	HBr	416.31
6	ДАБ-13		-	HCl	377.11
7	ДАБ-14		-	HBr	418.35
8	ДАБ-15		-	HCl	331.813
9	ДАБ-16		-	HBr	465.19

№	Шифр	 11H-2,3,4,5- тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2- а]бензимидазол		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
10	ДАБ-17		-	HBr	446.35
11	ДАБ-18		-	HBr	418.29
12	ДАБ-19		-	HBr	414.39
13	ДАБ-20		-	2HCl	359.36
14	ДАБ-21		-	2HCl	357.34
15	ДАБ-22		-	2HCl	371.37
16	ДАБ-23		-	2HCl	373.34
17	ДАБ-24		-	HCl	356.85
18	ДАБ-25		-	HCl	361.86

№	Шифр	 11H-2,3,4,5- тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2- а]бензимидазол		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
19	ДАБ-26		H	HBr	444.43
20	ДАБ-27		H	HCl	381.83
21	ДАБ-28		CH ₃	HCl	359.87
22	ДАБ-29		CH ₃	HCl	409.88
23	ДАБ-30		H	HCl	317.79
24	ДАБ-32		CH ₃	HBr	432.34
25	ДАБ-33		CH ₃	HBr	447.46
26	ДАБ-34		CH ₃	2HCl	431.38
27	ДАБ-35	CH ₂ COOH	CH ₃	-	273.34
28	ДАБ-36		CH ₃	HCl	376.33
29	ДАБ-38		CH ₃	2HCl	385.38
30	ДАБ-40		H	HCl	382.71
31	ДАБ-41		H	HCl	348.27

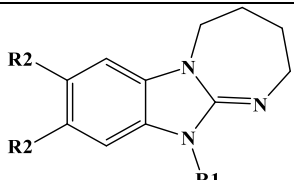
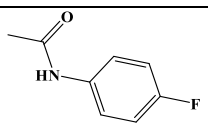
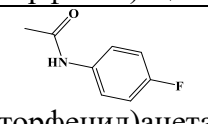
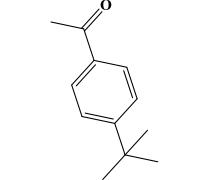
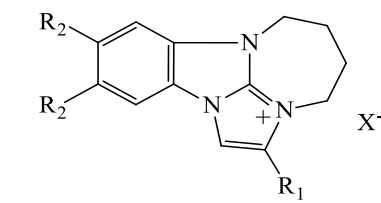
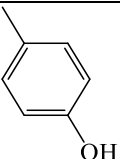
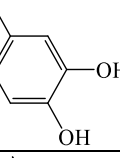
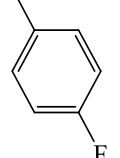
№	Шифр	 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол		nX	Молекулярная масса
		R ₁	R ₂		
32	ДАБ-43	 (4-фторфенил)ацетамид	H	HCl	374.88
33	ДАБ-44	 (4-фторфенил)ацетамид	CH ₃	HCl	402.90
34	ДАБ-45	 4-трет-бутилфенил	H	HBr	444.42

Таблица А.12 - Химическая структура нового ряда производных 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума

№	Шифр	 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иум			Молекулярная масса
		R ₁	R ₂	X	
1	ДАБ-46		H	Br	356.26
2	ДАБ-37		H	Br	400.27
3	ДАБ-47		H	Br	386.27

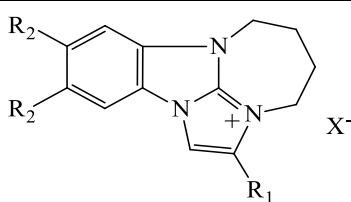
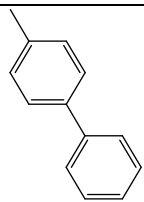
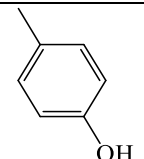
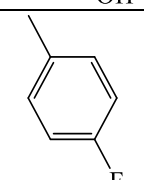
№	Шифр	 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иум			Молекулярная масса
		R ₁	R ₂	nX	
4	ДАБ-48		H	Br	444.38
5	ДАБ-49		CH ₃	Br	412.33
6	ДАБ-50		CH ₃	Br	414.32

Таблица А.13 - Химические структуры ряда бифенилметилзамещенных 2,3,4,5-тетрагидро-11Н-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолов

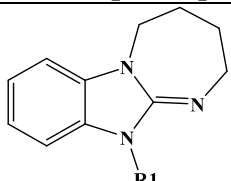
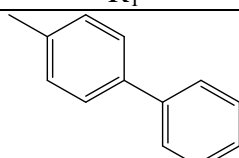
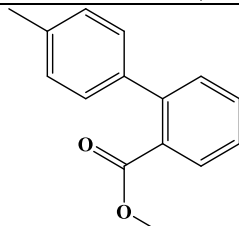
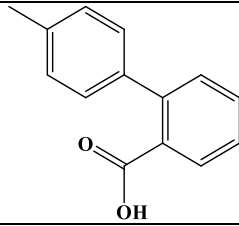
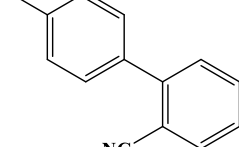
№	Шифр	 11Н-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазол		Молекулярная масса
		R ₁	nX	
1	БИФ-59		HBr	420
2	БИФ-60		HBr	511
3	БИФ-66		HBr	497
4	БИФ-69		HBr	468

Таблица А.14 - Показатели точности лучших нейросетевых ансамблей, отражающих мультитаргетную зависимость анксиолитической активности химических соединений, структурно близких к исследованным хемотипам, от энергии их докинга в 17 сайтах 14 релевантных биомишеней

№ ¹	Архитектура ²	Train ³	Test ⁴	Val ⁵	F ₀ ⁶	F _a ⁷	F _n ⁸	ROC ⁹
Уровень активности - высокий								
634	MLP 17-16-2 Tanh Softmax	100.0	74.2	90.0	94.9	90.0	95.7	91.5
39	MLP 17-16-2 Tanh Softmax	100.0	96.7	71.0	95.4	86.7	96.8	90.7
417	MLP 17-16-2 Tanh Softmax	99.4	74.2	80.6	93.1	83.3	94.6	89.1
250	MLP 17-16-2 Tanh Softmax	100.0	87.1	80.6	95.4	83.3	97.3	87.9
467	MLP 17-11-2 Tanh Softmax	99.4	74.2	90.3	94.4	80.0	96.8	84.8
427	MLP 17-16-2 Tanh Softmax	100.0	80.6	77.4	94.0	80.0	96.2	83.8
215	MLP 17-12-2 Tanh Softmax	100.0	77.4	80.6	94.0	90.0	94.6	92.5
Средняя		99.8	80.6	81.5	94.5	84.8	96.0	88.6
Консенсус		—	—	—	100.0	100.0	100.0	100.0
Уровень активности - высокий или умеренный								
219	MLP 17-14-2 Tanh Softmax	94.8	83.9	73.3	90.3	91.5	89.3	91.7
119	MLP 17-12-2 Exponential Softmax	99.4	86.7	61.3	92.1	90.4	93.4	92.5
390	MLP 17-15-2 Logistic Softmax	98.7	80.6	51.6	89.4	88.3	90.2	91.1
8	MLP 17-15-2 Exponential Softmax	98.7	90.3	64.5	92.6	91.5	93.4	93.1
587	MLP 17-16-2 Tanh Softmax	100.0	77.4	67.7	92.1	89.4	94.3	92.3
259	MLP 17-11-2 Tanh Softmax	98.1	77.4	67.7	90.7	94.7	87.7	93.0
49	MLP 17-17-2 Tanh Softmax	96.8	90.3	71.0	92.1	90.4	93.4	92.3
Средняя		98.1	83.8	65.3	91.3	90.9	91.7	92.3
Консенсус		—	—	—	97.2	96.8	97.5	97.2

Уровень активности - активный									
67	MLP 17-15-2 Logistic Softmax	99.4	93.5	83.3	96.3	97.9	81.0	93.6	
497	MLP 17-7-2 Tanh Softmax	99.4	80.0	90.3	95.4	95.9	90.5	95.6	
44	MLP 17-6-2 Tanh Softmax	97.4	100.0	87.1	96.3	96.9	90.5	96.4	
222	MLP 17-7-2 Tanh Softmax	99.4	93.5	87.1	96.8	98.5	81.0	97.0	
47	MLP 17-12-2 Logistic Softmax	100.0	100.0	90.3	98.6	99.0	95.2	95.8	
206	MLP 17-11-2 Tanh Softmax	100.0	77.4	90.3	95.4	96.9	81.0	89.2	
222	MLP 17-7-2 Tanh Softmax	96.8	93.5	87.1	94.9	95.4	90.5	94.6	
Средняя		98.9	91.1	87.9	96.2	97.2	87.1	94.6	
Консенсус		—	—	—	99.1	99.0	100.0	99.5	
Общая средняя		98.9	85.2	78.2	94.0	91.0	91.6	91.8	
Общая средняя для консенсуса		—	—	—	98.8	98.6	99.2	98.9	

¹ Номер лучшей нейронной сети в обучающих выборках.

² Многослойный персептрон, количество входных-скрытых-выходных нейронов, функции активации скрытого и выходного слоев.

³ Точность обучения, %.

⁴ Точность при независимом тестировании, %.

⁵ Точность валидации при перекрестном контроле Монте-Карло, %.

⁶ Суммарная точность предсказания по объединенному набору, %.

⁷ Точность прогноза активных соединений (чувствительность) по комбинированному набору, %.

⁸ Точность прогноза неактивных соединений (специфичность) на комбинированном наборе, %.

⁹ Точность по ROC-анализу на объединенном наборе, %.

Таблица А.15 - Данные консенсусного анализа чувствительности нейронов лучших нейронных сетей, отражающие зависимость высокой анксиолитической активности химических соединений, структурно сходных с исследованными хемотипами, от энергии их докинга в 17 сайтах 14 релевантных биомишеней

Мишень ¹	634 ²	39 ²	417 ²	250 ²	467 ²	427 ²	215 ²	Значение ³
ADRA1A	5.7	3.3	3.4	4.6	6.8	3.7	5.8	1
<i>ADRA1B</i>	6.4	8.8	6.9	7.0	4.0	7.7	8.0	6
<i>ADRA2A</i>	7.6	12.4	11.0	6.0	6.7	7.5	4.1	5
ADRA2B	3.0	3.7	4.3	4.5	11.6	4.3	6.0	1
<i>AGTR1</i>	6.7	6.5	7.6	6.1	4.8	7.7	11.2	6
GABA-A-GABA	4.3	3.1	4.2	6.1	4.2	3.8	3.0	1
GABA-A-Benz	6.1	5.5	3.3	4.2	5.0	6.7	7.0	3
HTR1A	6.0	4.1	3.6	5.5	3.9	4.3	2.6	0
HTR2A-Spec	4.7	4.7	5.2	5.8	8.1	5.6	7.0	2
HTR2A-Allo	6.5	14.6	12.3	4.2	5.9	2.6	6.4	4
HTR4	10.9	6.8	2.0	6.1	5.4	5.0	5.6	3
HTR7	3.7	4.1	5.8	8.0	10.7	6.8	6.6	4
MTNR1A	4.4	3.4	3.0	4.5	4.0	4.0	4.2	0
MTNR1B	4.8	5.0	4.4	10.5	4.7	3.6	3.2	1
<i>NMDA-Glut</i>	12.1	5.7	15.8	7.3	3.2	12.6	11.6	5
NMDA-Ca	3.5	5.0	4.0	5.3	6.4	10.9	3.7	2
SLC18A2	3.4	3.4	3.3	4.1	4.5	3.1	4.0	0

¹ Общепринятые сокращения для белков, при необходимости со ссылкой на сайт.

² Номер лучшей нейронной сети по высокому уровню анксиолитической активности.

³ Количество значимых нейронов с чувствительностью >6% (выделены курсивом).

Таблица А.16 - Регистрация общепармакологических эффектов соединения ДАБ-19 при введении в диапазоне доз 2,9-116 мг/кг в многопараметровом нейротоксикологическом тесте по S.Irwin, мыши, $M \pm m$

Тестируемые параметры	Норма, баллы	Доза изучаемого соединения ДАБ-19, мг/кг											
		Контроль			2,9 (ED ₅₀)			29 (ED ₅₀ x 10)			116 (ED ₅₀ x 40)		
		исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин
Поведенческие реакции													
Вокализация	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	0,2±0,17	0,2±0,17
Настороженность	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,2±0,17
Пассивность	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,8±0,17	3,8±0,17
Стереотипия	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Беспокойство	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	0,2±0,17	0,2±0,17
Агрессия	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Груминг	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,8±0,17	3,8±0,17
Спонтанная двигательная активность	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,2±0,17

Примечание: * - отличия достоверны в сравнении с контролем, one-way ANOVA с посттестом Даннета, $p < 0,05$.

н – значение соответствует норме

Тестируемые параметры	Норма, баллы	Доза изучаемого соединения ДАБ-19, мг/кг											
		Контроль			2,9 (ED ₅₀)			29 (ED ₅₀ x 10)			116 (ED ₅₀ x 40)		
		исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин
Нервно-мышечная возбудимость													
Реакция на прикосновение	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,2±0,17
Реакция на боль	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,2±0,17
Реакция на стук	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,2±0,17
Тремор	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Подергивание	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Судороги	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Расстройство походки	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Тонус конечностей	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Вегетативные эффекты													
Птоз/экзофтальм	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,8±0,17	3,8±0,17
Размер зрачка	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,8±0,17	3,8±0,17
Саливация	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Уринация	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Дефекация	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Температура	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Цвет кожи	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
ЧДД	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,8±0,17	3,8±0,17

Примечание: * - отличия достоверны в сравнении с контролем, one-way ANOVA с посттестом Даннета, p<0,05.
н – значение соответствует норме

Таблица А.17 - Регистрация общепармакологических эффектов соединения ДАБ-21 при введении в диапазоне доз 1,26-630 мг/кг в многопараметровом нейротоксикологическом тесте по S.Irwin, мыши, $M \pm m$

Тестируемые параметры	Норма, баллы	Доза изучаемого соединения ДАБ-21, мг/кг																
		Контроль			1,26 (ED ₅₀)			12,6 (ED ₅₀ x 10)			126 (ED ₅₀ x 100)			630 (ED ₅₀ x 500)				
		исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин		
Поведенческие реакции																		
Вокализация	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	0,2±0,17	н	н	0,5±0,22	0,3±0,21
Настороженность	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,3±0,21	4,3±0,21	н	4,3±0,21	4,2±0,17
Пассивность	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,7±0,21	3,8±0,17	н	3,7±0,21	3,8±0,16
Стереотипия	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Беспокойство	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	0,3±0,21	0,3±0,21	н	0,5±0,22	0,3±0,21
Агрессия	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Груминг	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,8±0,17	3,8±0,17	н	3,5±0,22	3,7±0,21
Спонтанная двигательная активность	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,2±0,17	н	4,5±0,22	4,3±0,21

Примечание: * - отличия достоверны в сравнении с контролем, one-way ANOVA с посттестом Даннета, $p < 0,05$.

н – значение соответствует норме

Тестируемые параметры	Норма, баллы	Доза изучаемого соединения ДАБ-21, мг/кг														
		Контроль			1,26 (ED ₅₀)			12,6 (ED ₅₀ x 10)			126 (ED ₅₀ x 100)			630 (ED ₅₀ x 500)		
		исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин
Нервно-мышечная возбудимость																
Реакция на прикосновение	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,5±0,22	4,2±0,17	н	4,5±0,22	4,3±0,21
Реакция на боль	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,2±0,17	н	4,3±0,21	4,2±0,17
Реакция на стук	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	4,3±0,21	н	4,2±0,17	4,3±0,21
Тремор	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Подергивание	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Судороги	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Расстройство походки	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Тонус конечностей	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н

Примечание: * - отличия достоверны в сравнении с контролем, one-way ANOVA с посттестом Даннета, p<0,05.

н – значение соответствует норме

Тестируемые параметры	Норма, баллы	Доза изучаемого соединения ДАБ-21, мг/кг																
		Контроль			1,26 (ED ₅₀)			12,6 (ED ₅₀ x 10)			126 (ED ₅₀ x 100)			630 (ED ₅₀ x 500)				
		исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин		
Вегетативные эффекты																		
Птоз/экзофтальм	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,7±0,21	3,8±0,17	н	3,7±0,21	3,7±0,21
Размер зрачка	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,7±0,21	3,7±0,21	н	3,5±0,22	3,6±0,21
Саливация	0,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Уринация	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	4,2±0,17	н	4,2±0,17	4,2±0,17
Дефекация	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
Температура	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	3,7±0,21	н	3,7±0,21	3,8±0,17
Цвет кожи	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н
ЧДД	4,0±0,01	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н	н

Примечание: * - отличия достоверны в сравнении с контролем, one-way ANOVA с посттестом Даннета, p<0,05.

н – значение соответствует норме