

МАЛЬЦЕВ ДМИТРИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

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

3.3.6 – Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Работа выполнена на кафедре фармакологии и биоинформатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в лаборатории экспериментальной фармакологии ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр»

Научный консультант:

Спасов Александр Алексеевич - заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Воронина Татьяна Александровна, заведующий лабораторией нейропсихофармакологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», доктор медицинских наук, профессор;

Оковитый Сергей Владимирович, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава РФ, доктор медицинских наук, профессор;

Крылов Илья Альбертович, директор Института фармакологии и фармации, заведующий кафедрой фармакологии и фармации ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, доктор медицинских наук, доцент

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки РФ, г. Белгород

Защита диссертации состоится «__» _____ 2024 г. в ____ ч. на заседании Диссертационного Совета 21.2.005.02 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России по адресу 400066, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России по адресу: 400066, Волгоград, пл. Павших борцов, 1, и на сайте www.volgmed.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Шаталова Ольга Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 исследования

Концепция создания новых соединений на основе принципов изостеризма не теряет актуальности и на сегодняшний день [Сао 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]дiazепино[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]триазепино[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 совместно с Волгоградским медицинским научным центром была создана база для проведения исследований противотревожного действия новых рядов соединений различных химических классов [Ковалев, 1990; Тюренков и др., 2017; Петров и др., 2015; Таран, 2017]. 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

Исследование анксиолитических свойств новых изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных с последующим фармакологическим изучением наиболее активных соединений.

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, а также методом *in vivo*.
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

Показана перспективность исследования изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов, по результатам которого изучены 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]дiazепино[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]дiazепино[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 diaзепино[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_{α1/β3/γ2} рецептора, потенцированием серотонинергических эффектов, опосредуемых через 5-НТ₂ серотониновые рецепторы, умеренным α₂-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]дiazеино[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]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).

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 мышах-самцах и крысах-самцах. Среди изостеров бензимидазола и бензодиазефина 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 скаффолдов перспективное направление поиска веществ с высоким уровнем противотревожного действия.

2. 11*H*-[1,3]дiazепино[1,2-*a*]бензимидазолы новый класс соединений проявляющим высокую анксиолитическую активность.

3. Соединение ДАБ-19 блокирует три типа глутаматергических каналов – NMDA, кальций-непроницаемые и кальций-проницаемые АМРА, а также проявляет анксиолитическое и противосудорожное действие.

4. Соединение под шифром ДАБ-21 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 АДМЕТ, 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 ВолГМУ 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 Урале Техническая 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В главе 1 изложены основные современные представления о концепции изостеризма, подходы к поиску и исследованию инновационных средств с анксиолитическими свойствами, рекомендации по лечению тревожных расстройств, а также достижения в разработке препаратов с психотропным действием. Проведен обзор литературных данных по современному состоянию и проблемам фармакокоррекции тревожных заболеваний.

В главе 2 описаны материалы и методы настоящего исследования. Был исследован пул из 81 соединения, принадлежащего к различным изостерам бензимидазольного и бензодиазепинового скаффолдов¹. Методами сетевой фармакологии проведен прогноз перспективности изучения различных изостеров с применением тест-системы PASS, после чего верификация активности указанных соединений была проведена *in vivo* с применением теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». Проанализирована взаимосвязь уровня активности изучаемых соединений и их химического строения для каждого химического класса. Результаты исследования легли в основу обучающей выборки для построения нейросетевой модели для высокоэффективного поиска новых соединений с выраженными противотревожными свойствами². Для наиболее активных соединений был исследован расширенный пул нейропсихотропных свойств, а именно 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

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

² 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.

(тест «Экстраполяционного избегания») свойства соединений с наиболее высокой противотревожной активностью. Были также исследованы миорелаксирующие эффекты соединений с применением батареи тестов («Сетка», «Проволока», «Ротарод»), а также свойства соединений при длительном 14-дневном введении в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Принудительное плавание по Porsolt», «Открытое поле» и в методике «Хронического непредсказуемого легкого стресса». Изучены механизмы действия соединений с высокой анксиолитической активностью путем оценки взаимодействия соединений с основными лигандами нейромедиаторных систем – тесты взаимодействия с флумазенилом, пикротоксином, 5-гидрокситриптофаном, ареколином, L-ДОФА, никотином, апоморфином, галоперидолом, клофелином и резерпином. Дополнительно исследовано содержание основных моноаминов и их метаболитов в головном мозге мышей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при введении исследуемых веществ в сравнении с классическими антидепрессантами³, исследован 5-HT_{2A} бета-аррестинный путь действия соединений⁴, их глутаматергические свойства электрофизиологическими методами на тканях гиппокама крысят⁵, а также взаимодействие соединений с высокой активностью с кальциевыми каналами L-типа. Оценена безопасность новых соединений: определена острая токсичность и LD₅₀, изучены нейротоксикологические параметры соединений в тесте по S.Irwin в широком диапазоне доз, оценен аддиктивный потенциал методом УРПМ, а также составлен прогноз основных фармакокинетических характеристик соединений с помощью сервисов ADMET.

В главе 3 было протестировано 81 соединение на наличие анксиолитической активности, относящиеся 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. По результатам PASS-анализа, для более чем 35% соединений

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.

⁴ 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.

⁵ Исследование выполнено в лаборатории биофизики синаптических процессов ИЭФБ РАН PhD в.н.с. Барыгиным О.И. и н.с. Дронем М.Ю. под руководством чл.-корр. РАН. Тихонова Д.Б., за что выражаем глубокую благодарность.

показана высокая вероятность наличия противотревожного действия, а для 39% из 81 вещества отмечается потенциал их антифобической активности. 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]дiazеино[1,2-а]бензимидазола (ДАБ-19 и ДАБ-21) продемонстрировали эффект, соответствующий высокоактивным соединениям, что составило 6% от числа протестированных производных diaзепино[1,2-а]бензимидазола или 2,5% от всего пула исследованных соединений. По частоте выявления высокоактивных/активных/низкоактивных/неактивных соединений изучаемые классы веществ располагаются в следующем порядке: 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолы > 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазолы > 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепины > 5*H*-2,3-бензодиазепины > 2-меркаптобензимидазолы > 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иумы > С²,С³-хиноксалины. Также, только для производных diaзепино[1,2-а]бензимидазола обнаружены соединения с высоким уровнем противотревожного действия, не только превосходящие diaзепам, но и не уступающие тофизопаму. Наименее перспективным классом для дальнейшего поиска соединений с противотревожным действием из изученных выше были производные 1,4-бензодиазина (хиноксалины), где только каждое пятое соединение проявило искомый вид активности (рисунок 1).

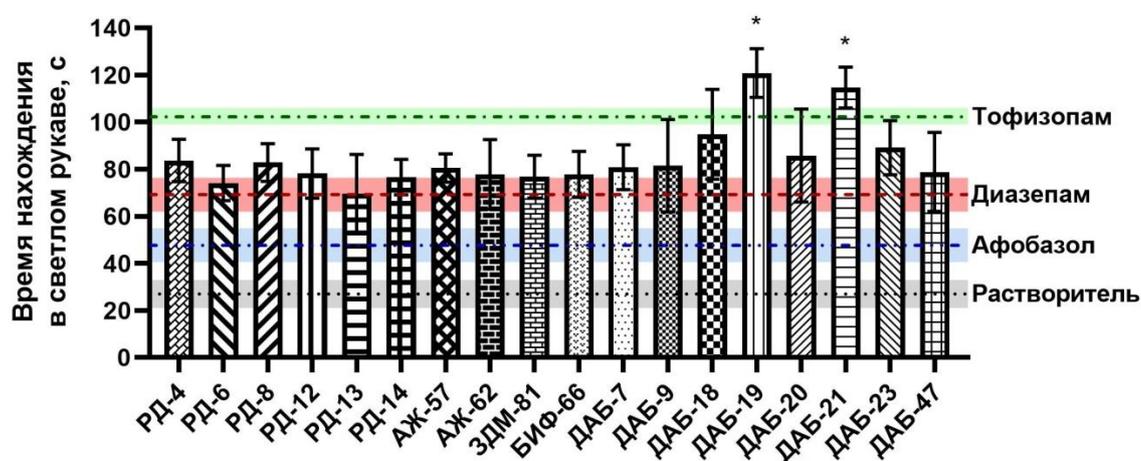


Рисунок 1 – Сравнение уровня анксиолитической активности наиболее активных соединений по результатам первого этапа исследования (в дозе, эквивалентной diaзепаму 1 мг/кг) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», пероральное введение, мыши, $M \pm m$. *Примечание:* * - различие достоверно по отношению к diaзепаму в дозе 1 мг/кг

Была установлена статистически значимая зависимость анксиолитической активности производных диазепино[1,2-а]бензимидазола от их химического строения: для соединений с разветвленным концевым фрагментом в N¹¹ положении отмечалось повышение противотревожной активности, а присутствие пирролидинового или морфолиноэтильного фрагментов увеличивало искомую активность; негативное воздействие на проявление противотревожной активности оказывало присутствие метильных радикалов в положениях 8 и 9. Выявлено, что бифенильный фрагмент в 75% случаев обеспечивает устойчивый анксиолитический потенциал изучаемой структуре.

С целью создания нейросетевой модели поиска были использованы методы сетевой фармакологии. По всем исследованным хемотипам и каждой из 92 релевантных анксиолитических биомишеней методом структурного сходства с использованием ПО Microcosm 7.2 и Microcosm BioS 20.6.6 были вычислены 15468 средних оценки уровня таргетной активности.

Идентификация фармакофоров анксиолитической активности впервые была проведена на основе решения обратной задачи анализа предварительно построенной QSAR-модели. При этом использовалась консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений, структурно релевантных изученным хемотипам. Построены монотаргетные фармакофоры, определяющие аффинность соединений к наиболее важным биомишеням анксиолитической активности по отдельности. Взаимодействие обеспечивается различными фармакофорными фрагментами скаффолдов, а также их заместителей. Таким образом были выявлены четыре значимые биомишени и построены мультитаргетные фармакофоры высокой активности, характеризующие общие особенности взаимодействия 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазолов и [1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепинов с адреналиновыми α_{1b} и α_{2a} , ангиотензиновыми AT₁ и глутаматергическими NMDA-рецепторами. Была сформирована консенсусная ансамблевая мультитаргетная нейросетевая модель анксиолитической активности химических соединений и на ее основе построены монотаргетные и мультитаргетные фармакофоры.

Таким образом, подводя итоги первого этапа исследования, было установлено, что статистически значимая противотревожная активность производных 11H-[1,3]дiazепино[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 констатировать перспективность комбинирования привилегированных подструктур как подхода 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.

В главе 4 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 и определение эффективной дозы для проявления противотревожного действия (рисунки 2,3).

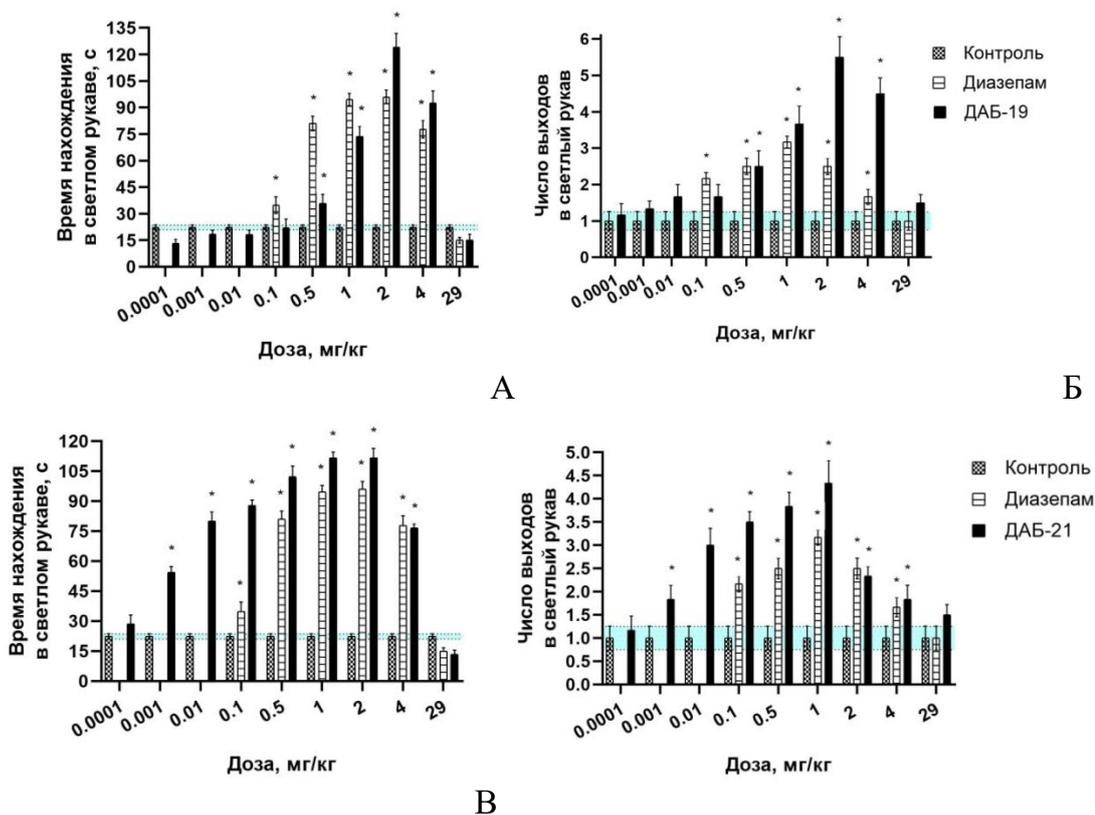


Рисунок 2 – Влияние соединений ДАБ-19 (0,00015-42 мг/кг, в/ж), ДАБ-21 (0,00012-36,5 мг/кг, в/ж) и диазепама (0,0001-29 мг/кг, в/ж) на поведение животных в условиях методики «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$. А, В – Время нахождения в светлом рукаве соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 (с); Б, Г – Число выходов в светлый рукав соединений ДАБ-19 и ДАБ-21. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Согласно рекомендациям «Руководства по доклиническому изучению лекарственных средств» [Воронина и др., 2012], был сформирован перечень тестов для проверки анксиолитических свойств соединений ДАБ-19 и ДАБ-21: «Приподнятый

крестообразный лабиринт», «Темная/светлая камера», «Открытое поле», «Тревожно-фобическое состояние животных» и «Конфликтная ситуация по Vogel».

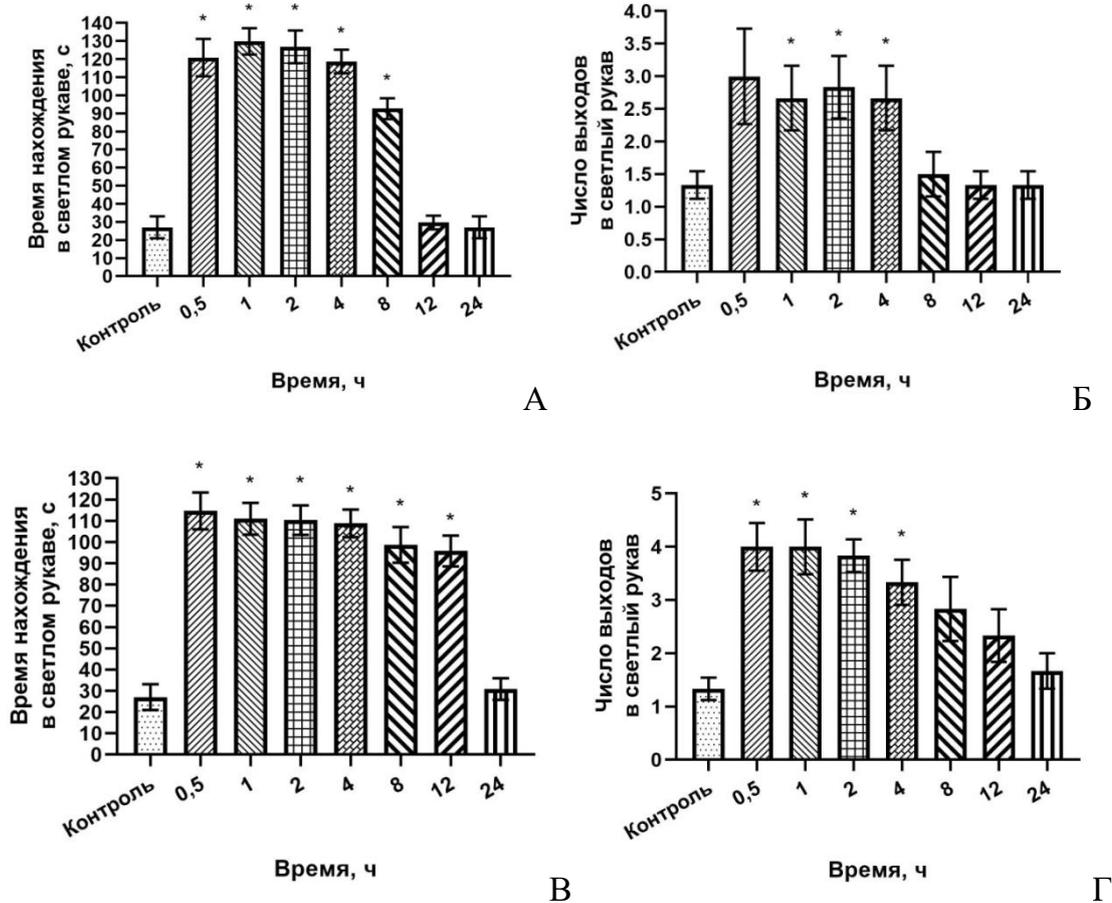


Рисунок 3 – Длительность влияния соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж) на поведение животных в условиях методики «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, внутрижелудочное введение, $M \pm m$. А, В – Время нахождения в светлом рукаве соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 (с); Б, Г – Число выходов в светлый рукав соединений ДАБ-19 и ДАБ-21. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Показано, что наиболее эффективной дозой для проявления анксиолитического действия вещества ДАБ-19 является 2,9 мг/кг, а соединения ДАБ-21 – 1,26 мг/кг. Под влиянием соединения ДАБ-19 уровень противотревожного эффекта был выражен уже через 30 минут после введения, выходил на «плато», после чего убывал, а через 12 часов после введения мышам параметры соответствовали контрольным значениям в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». В свою очередь, под влиянием соединения ДАБ-21 уровень противотревожного эффекта был выражен уже через 30 минут после введения, длился около 8 часов, а через 12 часов нивелировался. Анксиолитическое действие веществ ДАБ-19 и ДАБ-21 было подтверждено в условиях

методик «Темная/светлая камера», «Наказуемое взятие воды по Vogel», «Тревожно-фобическое состояние» (рисунок 4).

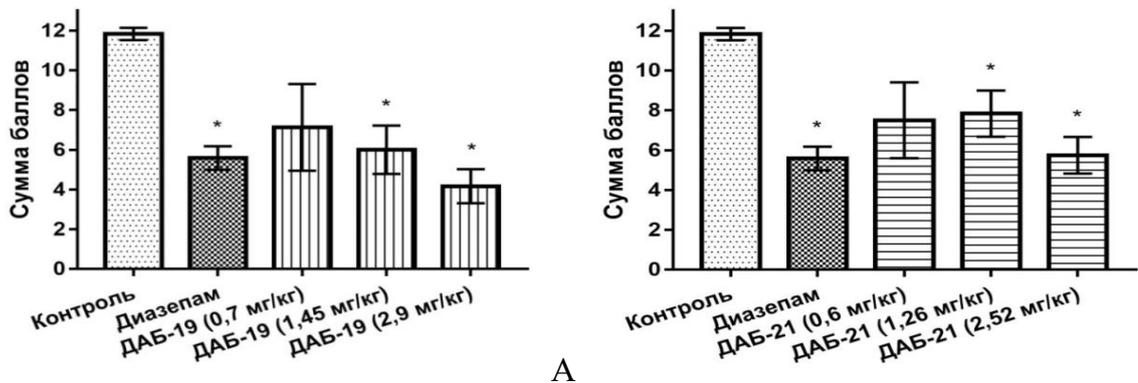
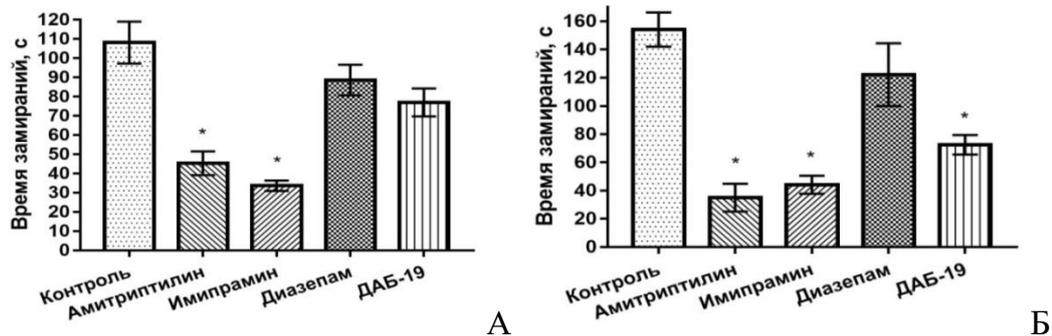


Рисунок 4 - Влияние соединений ДАБ-19 (0,7-2,9 мг/кг, в/б, график А), ДАБ-21 (0,6-2,52 мг/кг, в/б, график Б) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Тревожно фобическое состояние», крысы, $M \pm m$. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

В условиях теста «Открытое поле» была отмечена стимуляция горизонтальной и вертикальной двигательной активности мышей под влиянием соединения ДАБ-19, а также только горизонтальной двигательной активности – при введении соединения ДАБ-21. Умеренный антидепрессивный эффект был отмечен в условиях теста «Подвешивание за хвост», но не «Принудительного плавания по Porsolt» для вещества ДАБ-19. В отличие от него, под влиянием соединения ДАБ-21 отмечен выраженный антидепрессивный эффект как в условиях теста «Подвешивание за хвост», так и «Принудительного плавания по Porsolt», не уступая уровню препаратов сравнения - амитриптилину и имипрамину (рисунок 5).



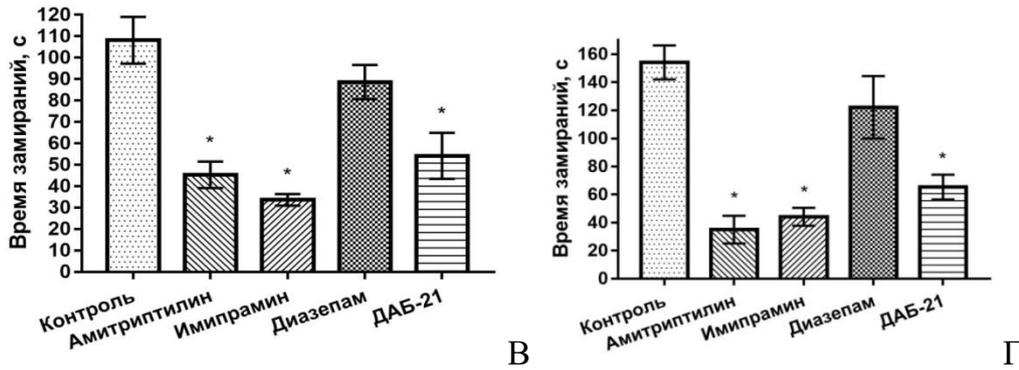


Рисунок 5 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж), ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), диазепама (1 мг/кг, в/ж), amitриптилина (10 мг/кг, в/ж) и имипрамина (8 мг/кг, в/ж) на поведение животных в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» (А, В) и «Подвешивания за хвост» (Б, Г), мыши, $M \pm m$. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Для вещества ДАБ-21 зарегистрировано умеренное противосудорожное действие в тесте «Коразоловых судорог», но не «Максимального электрошока». В свою очередь, соединение ДАБ-19 проявило выраженное противосудорожное действие в обоих тестах (таблицы 1-2).

Таблица 1 - Противосудорожная активность соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б) и 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-19 (2,9 мг/кг)	16,6 (1/6)*
ДАБ-21 (1,26 мг/кг)	50 (3/6)

Таблица 2 - Противосудорожная соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б) и 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±14,22	83,3 (5/6)
Диазепам (2 мг/кг)	-	0
ДАБ-19 (2,9 мг/кг)	140,2±7,85*	16,6 (1/6)
ДАБ-21 (1,26 мг/кг)	77,0±7,71	50,0 (3/6)

Аналгетическое действие для соединения ДАБ-21 было зарегистрировано в тесте «Горячей пластины», в то время как для соединения ДАБ-19 оказался несвойственным

обезболивающий эффект (рисунок 6). Оба соединения не проявили гипногенного действия в тесте «Гексеналовый сон».

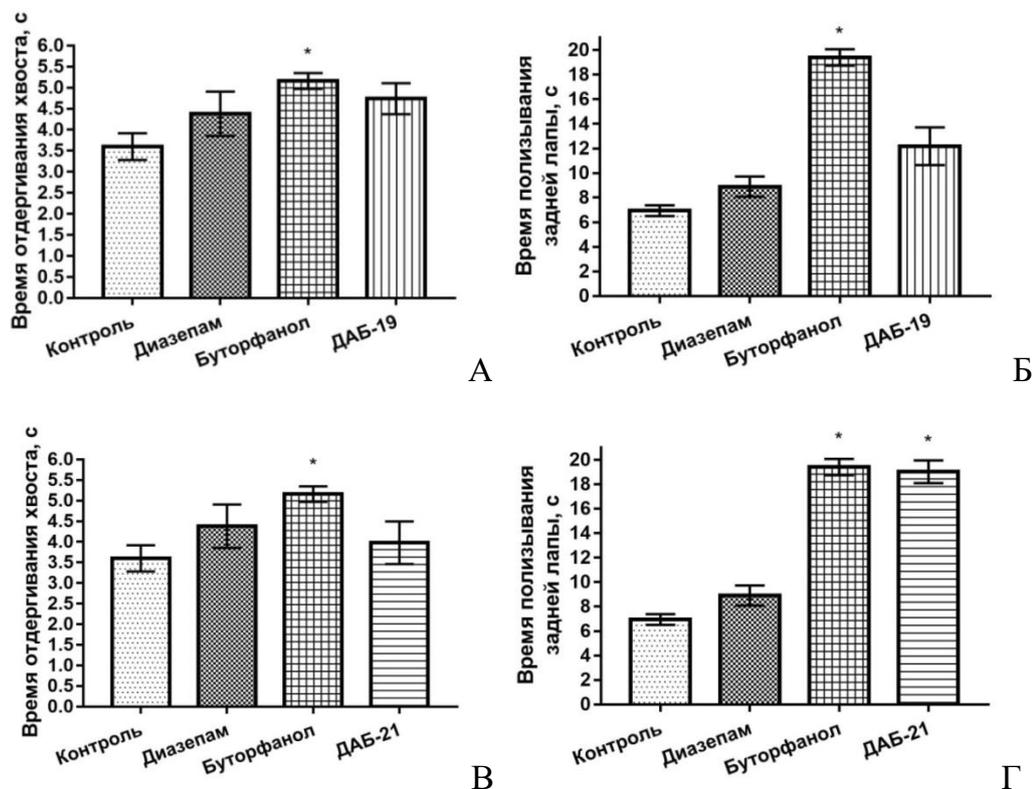


Рисунок 6 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б), ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/б), буторфанола (1 мг/кг, в/б) и диазепама (1 мг/кг, в/б) на развитие анальгетического действия в тесте «Отдергивания хвоста» (А, В) и «Горячая пластина» (Б, Г), $M \pm m$. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, one-way ANOVA и посттест Бонферрони)

Выявлено благоприятное влияние соединения ДАБ-21 на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интродер», выраженное в сниженных показателях агрессивного поведения с сохранением коммуникативного потенциала. Антифобическое действие отмечено для двух исследованных соединений в сравнении с диазепамом (рисунок 7). Уровни когнитивных функций и условно-рефлекторной деятельности крыс под влиянием веществ ДАБ-19 и ДАБ-21 в методике «Тест экстраполяционного избегания» соответствовали контрольным значениям в отличие от их структурного аналога диазепама, вызвавшего заторможенность реакции грызунов (рисунок 8).

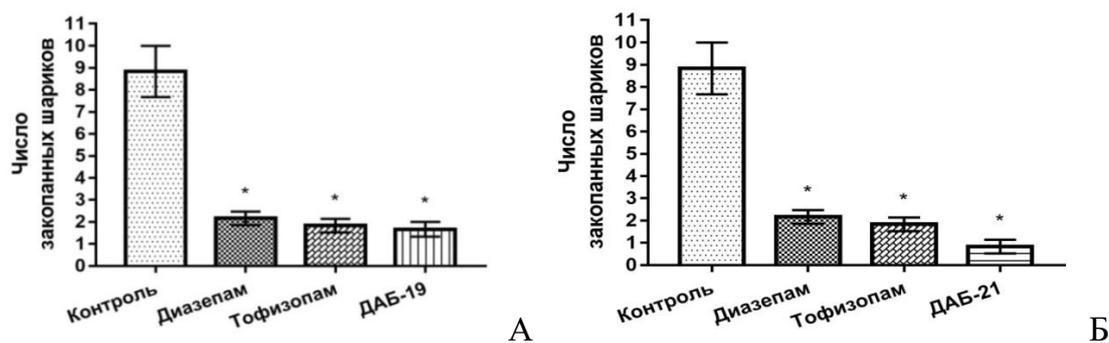


Рисунок 7 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б), ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/б), тофизопама (2 мг/кг, в/ж), и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на поведение мышей в тесте «Закапывание шариков», $M \pm m$. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

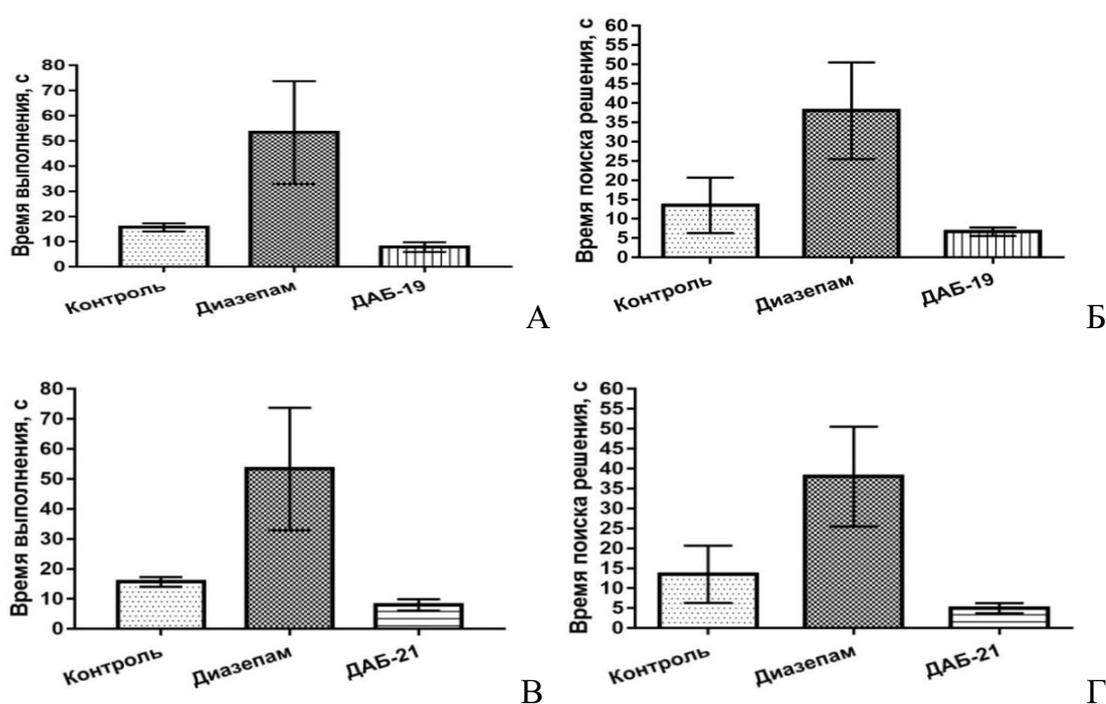


Рисунок 8 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б), ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/б) и диазепама (1 мг/кг, в/ж) на когнитивные функции крыс в тесте «Острой эвристической ситуации», $M \pm m$. А, В – Общее время выполнения (с); Б, Г – Время поиска решения (с). *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

При 14-дневном введении было сохранено анксиолитическое действие соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Антидепрессивное действие в тесте «Принудительного плавания по Porsolt» было сохранено для вещества ДАБ-21, но не соединения ДАБ-19. Отмечена стимуляция двигательной активности мышей в «Открытом поле» под влиянием вещества ДАБ-19 при длительном введении. На модели хронического непредсказуемого легкого стресса противотревожный эффект соединения ДАБ-21 был выражен, как и для соединения под

шифром ДАБ-19, и приближался к значениям группы флуоксетина, оказавшим наиболее значимое противотревожное действие в условиях методики (рисунок 9, таблица 3).

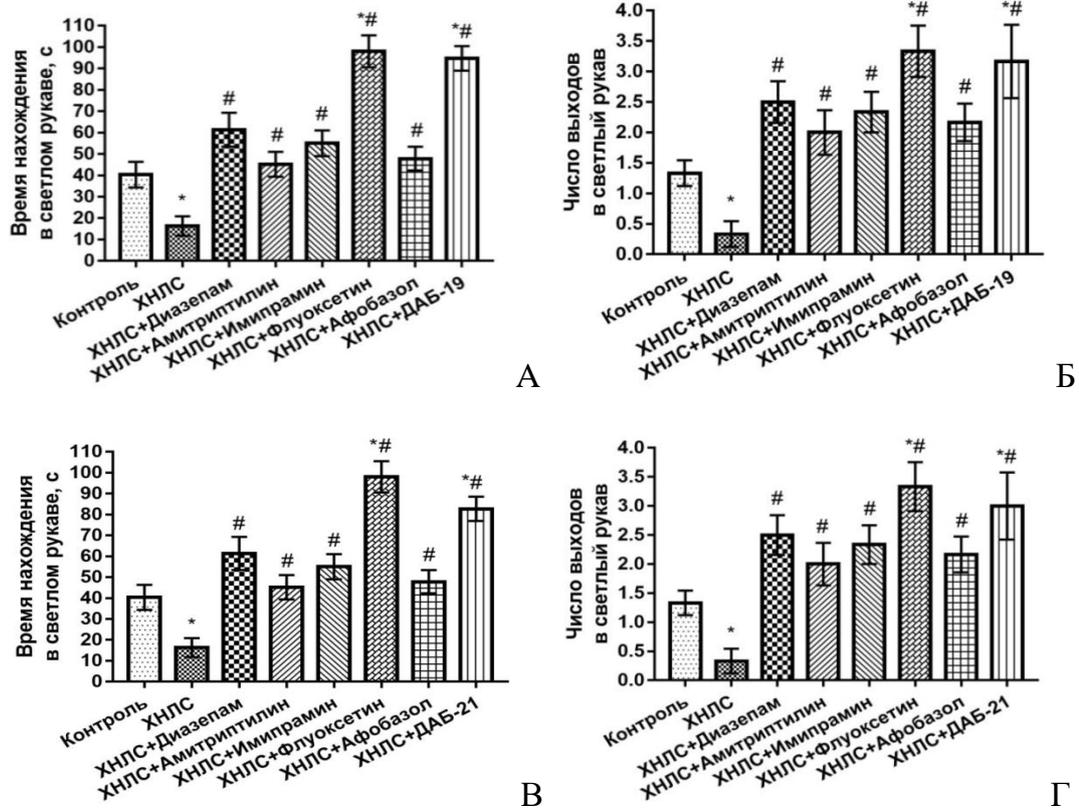


Рисунок 9 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/б), ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/б), диазепам (1 мг/кг, в/ж), amitриптилина (10 мг/кг, в/ж), имипрамина (8 мг/кг, в/ж), флуоксетина (10 мг/кг, в/ж), афобазола (5 мг/кг, в/ж) на поведенческую активность мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при моделировании хронического непредсказуемого легкого стресса (ХНЛС), $M \pm m$. А, В – Время нахождения в светлом рукаве (с), Б, Г – 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)

Таблица 3 – Нейропсихотропный профиль соединений ДАБ-19, ДАБ-21 и препарата диазепам

№	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-интродер»)				
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 в тесте «Актометр»	↑	-	↓
15	Удержание на проволоке	-	-	-
16	Удержание на сетке	-	-	-
17	Удержание на вращающемся стержне в тесте «Ротарод»	-	-	↓

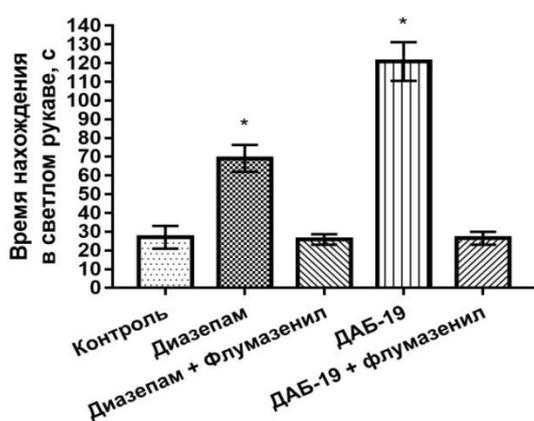
Примечание: эффект: «+» - присутствует; «-» - отсутствует; «↓» - снижен; «↑» - повышен.

В целом можно выделить следующие спектры поведения животных под влиянием исследуемых веществ: ДАБ-21 – выраженные анксиолитический и антидепрессивный эффекты, антиагрессивное действие и, возможно, некоторая анальгетическая активность; ДАБ-19 – выраженные анксиолитический и противосудорожный эффекты, антиагрессивное действие и, возможно, некоторая психостимулирующая активность.

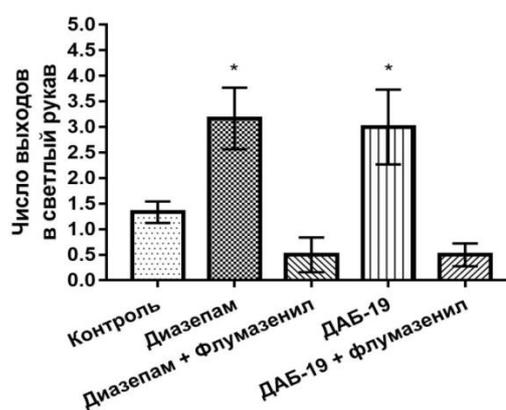
В главе 5 были исследованы возможные механизмы анксиолитического действия 11*H*[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола - 11-(4-*трет*-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола гидробромида (ДАБ-19) и 11-[2-(1-пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazепино[1,2-а]бензимидазола дигидрохлорида (ДАБ-21). 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 включены также возможные дофаминергические эффекты. Указанные нейромедиаторные системы были взяты за основу для формирования пула тестов в рамках определения пути реализации эффектов изучаемых соединений.

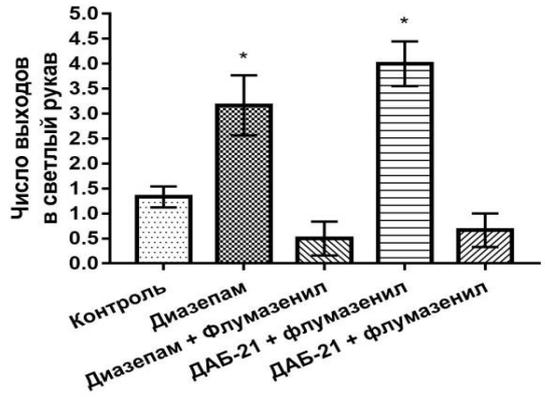
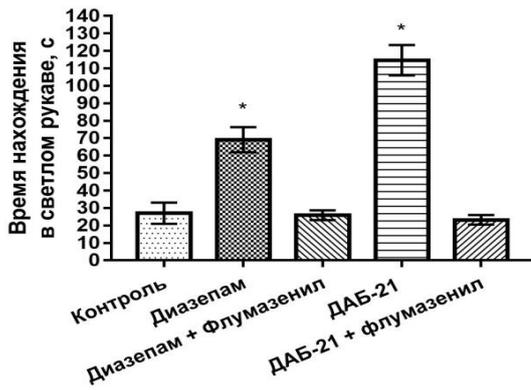
По результатам исследования с использованием методов *in vivo*, показано, что наиболее выраженными были взаимодействия тестируемых веществ ДАБ-19 и ДАБ-21 с антагонистом бензодиазепинового сайта ГАМК_A рецептора – флумазенилом (тест «Взаимодействия с флумазенилом», рисунок 10) и агонистом 2 типа серотониновых рецепторов - 5-гидрокситриптофаном (тест «5-гидрокситриптофановый гиперкинез», рисунок 11). Указанные эффекты полностью согласуются с прогнозом, выполненным на первом этапе изучения анксиолитического действия и полученными нейропсихотропными эффектами соединения.



А



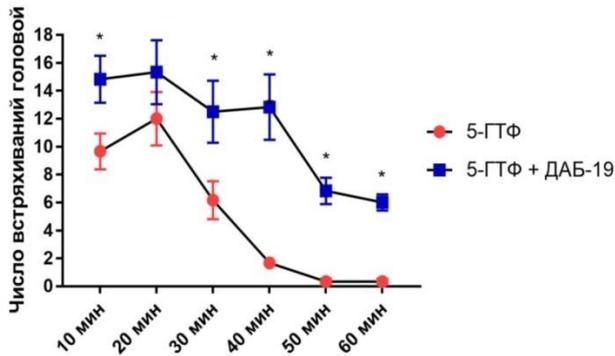
Б



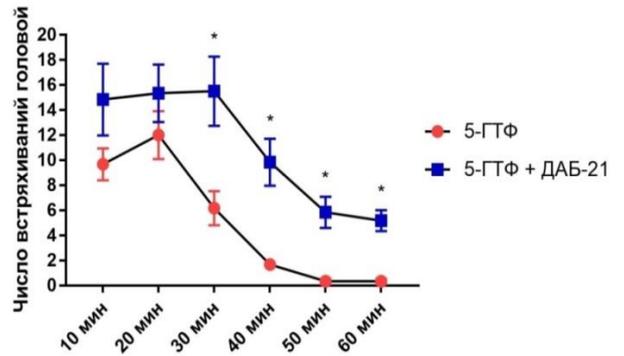
В

Г

Рисунок 10 - Влияние флумазенила (1 мг/кг, в/б) на проявление анксиолитической активности соединения ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и диазепам (1 мг/кг, в/ж) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», мыши, $M \pm m$. А, В – Время нахождения в светлом рукаве; Б, Г – Общее число выходов в светлый рукав. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к группе контроля ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

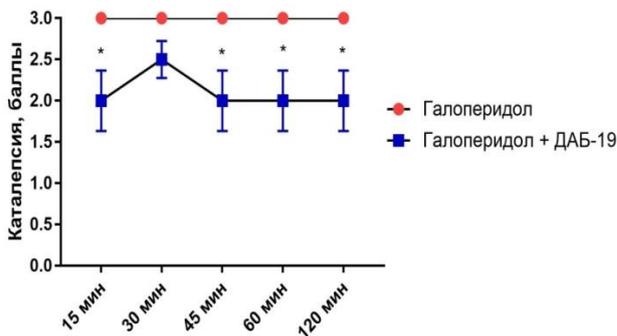


А

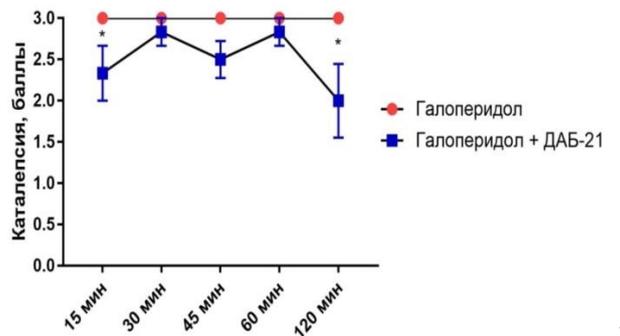


Б

Рисунок 11 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж, график А) и ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж, график Б) на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана (5-ГТФ, 300 мг/кг, в/б), мыши, $M \pm m$. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к группе 5-ГТФ ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)



А



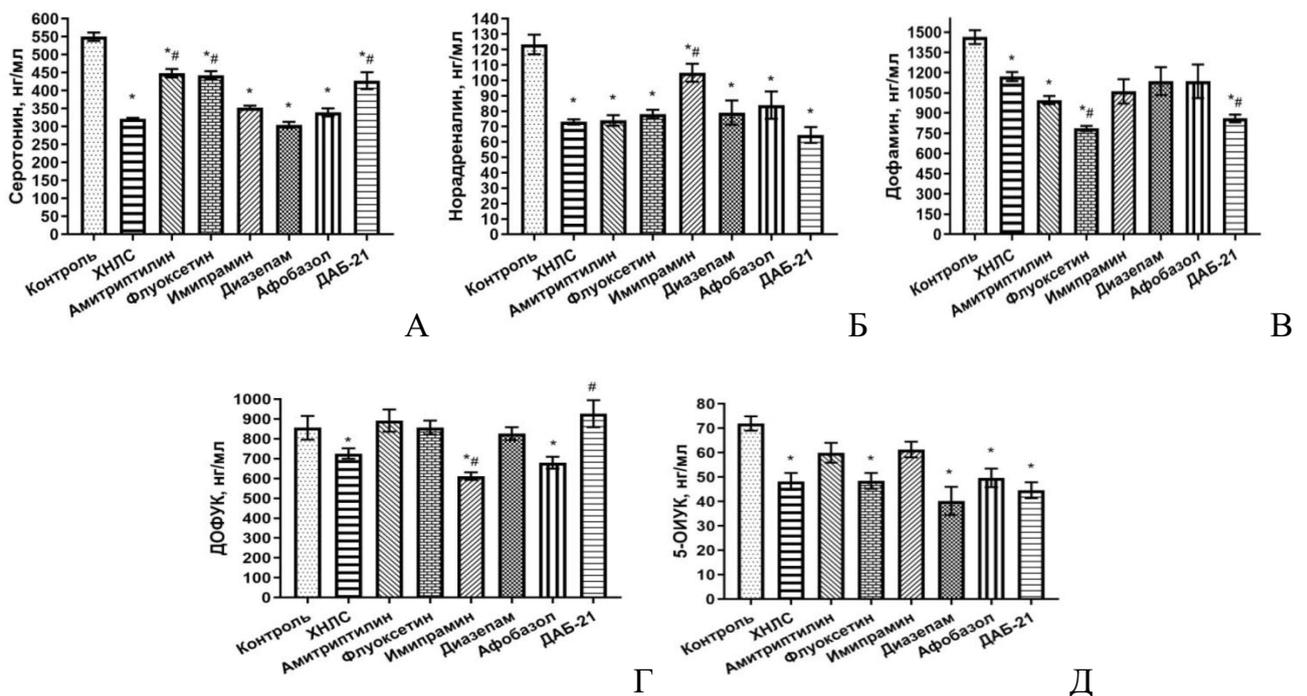
Б

Рисунок 12 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж, график А) и ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж, график Б) на каталепсию, вызванную галоперидолом (3 мг/кг), $M \pm m$. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к группе галоперидола ($p < 0,05$, U-критерий Манна-Уитни)

Процесс аллостерического регулирования хлорных ионных каналов опосредуется через связь с двумя субъединицами - $\alpha 1$ и $\gamma 2$ [Johnston G.A., 1996]. По результатам прогноза был получен тип ГАМК рецептора $\alpha 1/\beta 3/\gamma 2$. Отмечается отсутствие прямого

влияния на регуляцию хлорных ионных каналов в тесте судорог, вызванных пикротоксином. Серотониновое действие соединения ДАБ-19 связано с выраженным потенцированием эффектов 5-гидрокситриптофана, что согласуется с предварительными прогнозными данными, а также повышением концентрации метаболитов серотонина в головном мозге мышей. Дофаминергическое влияние было выявлено в тесте регистрации катаlepsии, вызванной галоперидолом (тест «Галоперидоловая катаlepsия», рисунок 12), что, вероятно, связано с дофамин-миметическим действием соединения ДАБ-19, либо, возможно, указанный эффект опосредован ингибирующим действием вещества на синтез норадреналина из дофамина (рисунок 13). Для соединения ДАБ-19 отмечалось слабое действие на гипотермию, вызванную клофелином, которое опосредуется через α -адренорецепторы. В остальном как адренергические, так и холинергические эффекты не регистрировались.

Выраженность взаимодействия соединения ДАБ-21 с клофелином была несколько выше, проявляя умеренный α_2 -адреноблокирующий эффект, что согласуется с результатами прогноза. При изучении возможного влияния на дофаминергическую систему соединение ДАБ-21 изменяло эффекты блокатора D_2 дофаминовых рецепторов - галоперидола и предшественника дофамина - L-ДОФА. Эффекты не противоречат друг другу. Так, соединение ДАБ-21 облегчало вызванную галоперидолом катаlepsию, тем самым оказывая продофаминергическое действие (тест «Галоперидоловая катаlepsия», рисунок 12).



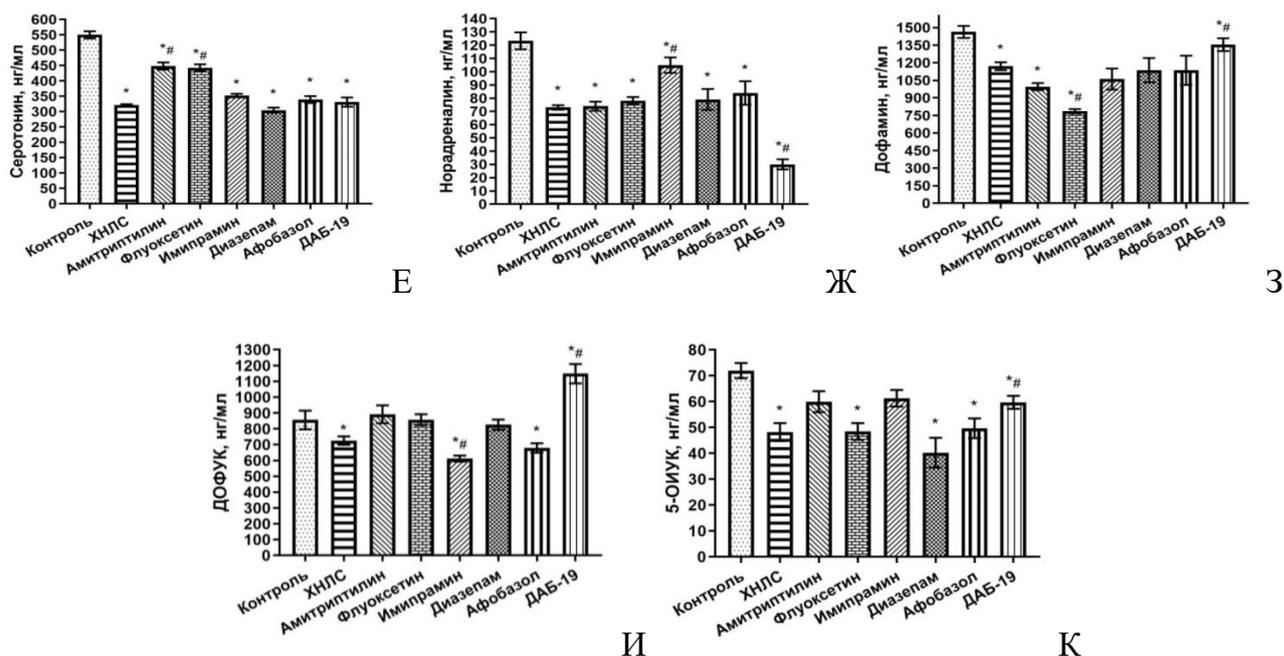


Рисунок 13 – Количественные показатели содержания моноаминов и их метаболитов на образцах мозга мышей с использованием ВЭЖХ на модели хронического непредсказуемого легкого стресса (ХНЛС), при 14-дневном введении amitриптилина (10 мг/кг, в/ж), флуоксетина (10 мг/кг, в/ж), имипрамина (8 мг/кг, в/ж), диазепам (1 мг/кг, в/ж), афобазола (5 мг/кг, в/ж) и соединений ДАБ-19 (2,9 мг/кг, в/ж) и ДАБ-21 (1,26 мг/кг, в/ж), $M \pm m$. А, Е - Серотонин; Б, Ж – Норадреналин; В, З – Дофамин; Г, И – ДОФУК (3,4- диоксифенилуксусная кислота); Д, К – 5-ОИУК (5-оксииндолуксусная кислота). *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к группе контроля, # - Данные достоверны по отношению к группе ХНЛС ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

Однако существует значительное количество механизмов, которые могут влиять на формирование каталептогенного действия галоперидола, К примеру, влияние на NMDA-глутаматовые рецепторы [Hattori K. et al., 2006], а также на 5-HT₂-серотонинергические рецепторы способно изменять эффекты дофаминовых рецепторов 2 типа [Di Giovanni G. et al., 2010; Blasi G. et al., 2015]. В свою очередь, способность 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 Y. et al., 2005; Krishna R. et al., 2014]. Такие эффекты частично наблюдались при анализе результатов содержания моноаминов и их метаболитов на целом мозге мышей (рисунок 13), где отмечалось достоверное увеличение серотонина и продукта метаболизма дофамина – ДОФУК.

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 (таблицы 4-5,

рисунок 13). Для вещества показана умеренная блокирующая активность в отношении кальциевых каналов L-типа (таблица 6), а также отсутствие влияния на 5-НТ_{2A} β-аррестинный сигналинг.

Таблица 4 – Антагонистическое взаимодействие соединений ДАБ-19 (0,1 мкМ) и 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-19	100%	100%	100%
ДАБ-21	27%	15%	-

При изучении механизмов анксиолитического действия соединения-лидера в тестах *in vitro* установлено, что вещество ДАБ-21 является низкоактивным блокатором NMDA- и AMPA-рецепторов (таблица 4). Для вещества показано отсутствие влияния на кальциевые каналы L-типа (таблица 6), а также на 5-НТ_{2A} β-аррестинный сигналинг.

Таблица 5 – Влияние соединения ДАБ-19 в диапазоне доз 5-16 мкМ на основные подтипы ионотропных глутаматных рецепторов

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

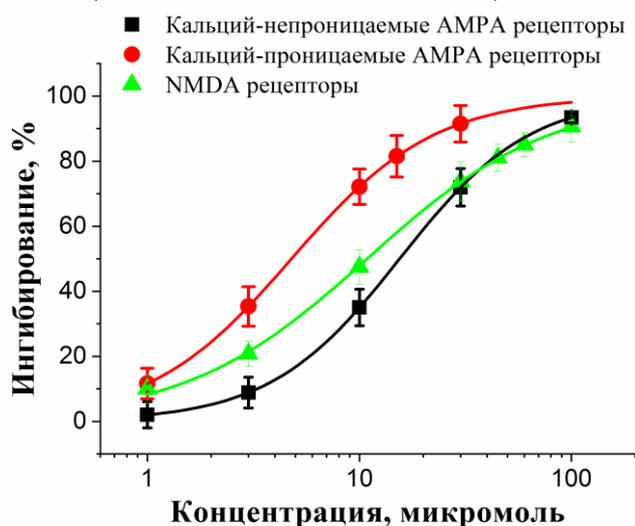


Рисунок 13 - Концентрационные зависимости действия соединения ДАБ-19 на NMDA, кальций-непроницаемые и кальций-проницаемые AMPA-рецепторы

Таблица 6 - Влияние соединений ДАБ-19, ДАБ-21, диазепам и верапамил на КС1-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
ДАБ-21 (20 мкмоль)	-10,8±7,08

Сводная информация о полученных экспериментальных данных механизмов действия исследуемых соединений приведена в таблице 7.

Таблица 7 – 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 катаlepsия	↓	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, 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 бензодиазепинового сайта ГАМК-рецептора (комбинация субъединиц $\alpha 1/\beta 3/\gamma 2$), а также усиливает эффекты 5-гидрокситриптофана, обладает слабым α -адренергическим действием, потенциально ингибирует дофамин- β -гидроксилазу и умеренно блокирует кальциевые каналы L-типа;

ДАБ-21 – положительный аллостерический модулятор бензодиазепинового сайта ГАМК-рецептора (комбинация субъединиц $\alpha 1/\beta 3/\gamma 2$), действует на 5-HT₂ серотониновые рецепторы, обладает умеренным α_2 -адреноблокирующим действием, слабым глутаматергическим действием, возможно также MAO-ингибирующее действие и влияние на обратный захват моноаминов.

В главе 6 для соединений с высокой анксиолитической активностью под шифрами ДАБ-19 и ДАБ-21 были предсказаны фармакокинетические параметры с помощью системы ADMET, определена острая токсичность при внутрижелудочном введении с определением средней летальной дозы, оценен нейротоксикологический профиль в тесте по S.Igwin, исследован потенциал ко вторичной аддикции в тесте «Условная реакция предпочтения места».

Показатель LD₅₀ для изучаемых соединений был рассчитан 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 (рисунок 14).

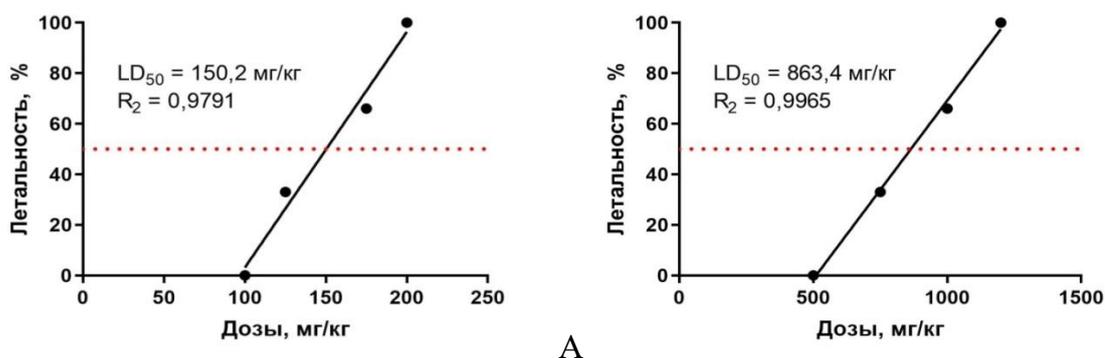


Рисунок 14 – Средняя смертельная доза (LD₅₀) соединений ДАБ-19 (А) и ДАБ-21 (Б) при однократном внутрижелудочном введении и последующим двухнедельном наблюдением, мыши

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 низкими дозами, вызывающими летальный исход. Не отмечено аддиктивного потенциала для соединений ДАБ-19 и ДАБ-21 в условиях теста «Условная реакция предпочтения места» в сравнении с диазепамом, что свидетельствует о сниженном побочном действии относительно бензодиазепинов (рисунок 15).

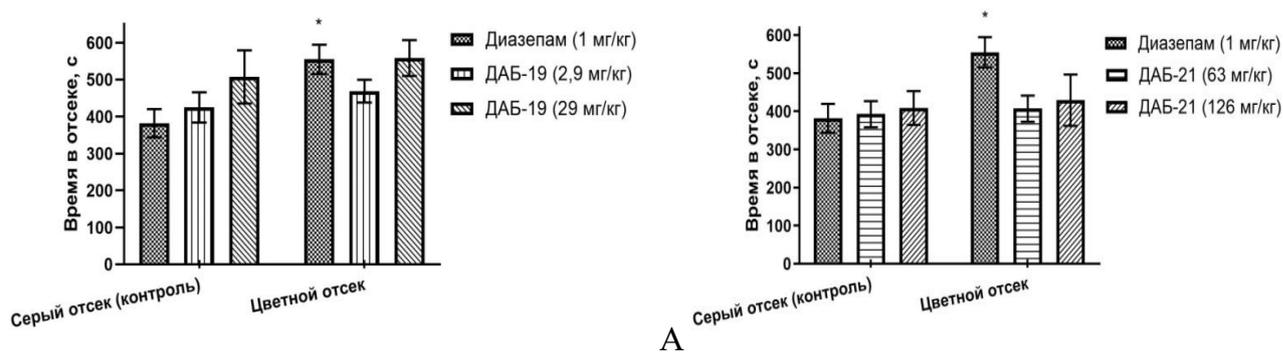


Рисунок 15 - Влияние соединений ДАБ-19 (2,9-29 мг/кг, в/ж), ДАБ-21 (63-126 мг/кг, в/ж) и диазепам (1 мг/кг, в/ж) на развитие аддикции у мышей в тесте «Условная реакция предпочтения места», $M \pm m$. *Примечание:* * - Данные достоверны по отношению к группе контроля ($p < 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса и посттест Данна)

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. Соединение под лабораторным шифром ДАБ-21 может быть охарактеризовано степенью всасываемости в ЖКТ – 70%, что несколько меньше, чем для соединения ДАБ-19 – 83%. Степень связывания с белками плазмы крови для соединения ДАБ-21 составила 62%, для ДАБ-19 – 89%. В то же время, изучаемое соединение ДАБ-21 характеризуется максимально возможным уровнем проницаемости через ГЭБ. Согласно данным об объеме распределения соединения ДАБ-21, оно обладает высокой липофильностью, и, вероятно, связывается с белками и липидами тканей организма. Для соединений характерно отсутствие канцерогенности, мутагенности, а также гепато-, иммуно- и цитотоксических свойств.

Для изучаемых соединений показан различный профиль метаболических трансформаций. Так, соединение ДАБ-21 может являться субстратом и ингибитором

CYP2D6, а также субстратом для CYP3A4, CYP2C19 и CYP1A2. Цитохром CYP2D6 является преимущественным путем метаболизации большинства психотропных препаратов, в том числе диазепама. В то же время, существуют и препараты, сочетающие свойства как субстрата, так и ингибитора указанного фермента, среди которых антидепрессанты флуоксетин и мirtазапин, а также антипсихотические средства - перфеназин, зуклопентиксол, хлорпромазин. Субстратом для CYP2C19 являются трициклические антидепрессанты кломипрамин, амитриптилин, моклобемид, бупропион, а также диазепам и группа ингибиторов протоновой помпы. Для CYP1A2 субстратами также являются кофеин, галоперидол, атипичный антидепрессант - агонист мелатониновых рецепторов агомелатин, а также антидепрессант группы СИОЗСН дулоксетин.

В главе 7 приведено обсуждение результатов исследования. Было проведено изучение изостеров бензодиазепина и бензимидазола на анксиолитические свойства, найдены вещества с высокой анксиолитической активностью, определены их нейрпсихотропные свойства и механизм действия, а также изучены токсикологические свойства. Обоснована рациональность поиска среди различных типов химических классов, определена перспективность поиска среди различных классов изостеров бензимидазольного и бензодиазепинового скаффолдов. Данные о зависимости эффекта от особенностей химического строения и безвредности интерпретированы с учетом литературных данных. Обсуждены механизмы анксиолитического действия соединений лидеров, отмечены выраженные эффекты в отношении бензодиазепинового сайта ГАМК-рецепторов, оригинальная глутаматергическая активность, монаминергические действие. Эффекты рассмотрены в сравнении с уже существующими веществами и проведен анализ соответствия механизмов действия с реализацией анксиолитического потенциала веществ. Обоснована важность продолжения доклинического изучения соединений-лидеров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено поиску новых высокоэффективных анксиолитических средств среди изостеров бензодиазепинового и бензимидазольного скаффолдов и их производных. Для исследования было выбрано 81 соединение семи различных химических классов - C^2, C^3 -хиноксалина, 11*H*-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола, 2-меркаптобензимидазола, 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазола, бромиды 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иума, 5*H*-2,3-бензодиазепина, 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепина. Для указанного пула соединений проведен анализ с применением методов сетевой фармакологии для выявления перспективности их исследования на анксиолитическую активность, после чего данные были подтверждены экспериментальным путем в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». По результатам исследования определены перспективы поиска анксиолитической активности среди новых молекул, основанных на изостерной оптимизации структур. Сформирована грация выраженности противотревожного действия соединений среди различных классов изостеров.

Установлен наиболее перспективный класс с выраженной анксиолитической активностью – 11*H*-[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола, являющиеся новым классом, совмещающим в своей базовой структуре два привилегированных скаффолда - бензимидазольный и бензодиазепиновый. Особенности химерной химической структуры diaзепино[1,2-а]бензимидазола свидетельствуют о перспективности комбинирования привилегированных подструктур и использовании изостерических замен у бензимидазолов и бензодиазепинов как подходов при синтезе и создании новых химических соединений с выраженной противотревожной активностью. Выявленные функциональные дескрипторы могут быть использованы для направленного конструирования новых молекул с психотропным действием, последующим их синтезом и экспериментальным изучением. Данные легли в основу оригинальной нейросетевой модели поиска соединений с высоким противотревожным потенциалом.

Установлены преимущественные механизмы развития противотревожного действия соединений лидеров. Для соединения ДАБ-19 показан оригинальный механизм глутаматергического действия, связанный с неконкурентным блокированием потенциал-зависимых NMDA рецепторов, а также аллостерическая модуляция кальций-

непроницаемых и кальций-проницаемых АМРА-рецепторов. Для вещества отмечается влияние на бензодиазепиновый сайт ГАМК_A рецептора, усиление эффектов 5-гидрокситриптофана, а также слабым α -адренергическим действием и умеренным ингибированием кальциевых каналов. В свою очередь, для соединения ДАБ-21 характерно более выраженное влияние на серотонинергические эффекты опосредуемых через 5-HT₂ серотониновые рецепторы, умеренное α_2 -адреноблокирующее действие и МАО-ингибирующее влияние на обратный захват моноаминов. Сохраняется активность в отношении бензодиазепинового сайта ГАМК, а глутаматергическое действие соединения ДАБ-21 достаточно слабое.

Результаты исследования фармакологической активности, безопасности и механизма противотревожного действия оригинального соединения ДАБ-19 позволяют предполагать возможность его использования для разработки нового анксиолитического и противосудорожного средства с глутаматергическим, серотонинергическим и бензодиазепиновым действием.

Идентифицированное высокоактивное соединение ДАБ-21 с выраженным бензодиазепиновым и серотонинергическим, а также умеренным адренергическим действиями, позволяет его рассматривать как более активное, чем препарат сравнения диазепам, вещество с анксиолитическим и дополнительным антидепрессивным эффектами.

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]дiazеино[1,2-а]бензимидазолы > 1,4-дифенил-5*H*-[1,2,5]триазеино[5,4-а]бензимидазолы > 7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-а][2,3]бензодиазепины > 5*H*-2,3-бензодиазепины > 2-меркаптобензимидазолы > 3,4,5,6-тетрагидро-2а,6а,10b-триазабензо[а]циклопента[сd]азулен-2а-иумы > С²,С³-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 diaзеино[1,2-а]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[сd]азуленума.

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 биомшеней. 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, 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, частности производных 11*H*-[1,3]дiazепино[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]дiazепино[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]дiazепино[1,2а]бензимидазола дигидрохлорида.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Maltsev D. V.** Consensus Ensemble Multitarget Neural Network Model of Anxiolytic Activity of Chemical Compounds and Its Use for Multitarget Pharmacophore Design / P. M. Vassiliev, D. V. Maltsev, A. A. Spasov, M. A. Perfiliev, M. O. Skripka, A. N. Kochetkov // **Pharmaceuticals**. – 2023. – Vol. 16. – P. 731. [**Web of Science**]
2. **Мальцев Д. В.** Новые ацетамидные производные хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона: нейросетевой прогноз, синтез и психотропная активность / М. А. Перфильев, П. М. Васильев, А. А. Озеров, Д. В. Мальцев, А. Р. Плужникова, Д. В. Мережкина // **Известия Академии наук. Серия химическая**. – 2023. – Т. 72. - № 4. – С. 1075-1082. [**Web of Science**]
3. **Maltsev D. V.** Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel C2,C3-Quinoxaline Derivatives as Promising Anxiolytic Agents / D. V. Maltsev, M. O. Skripka, A. A. Spasov, P. M. Vassiliev, M. A. Perfiliev, L. N. Divaeva, A. A. Zubenko, A. S. Morkovnik,

A. I. Klimenko, M. V. Miroshnikov, V. G. Klochkov, L. R. Ianalieva // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2022. – Vol. 23. – No 22. – P. 14401. [Web of Science]

4. **Мальцев Д. В.** Влияние производного C²,C³-хиноксалина соединения А81 и диазепама на содержание основных катехоламинов и их метаболитов в головном мозге крыс / М. О. Скрипка, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников, Л. А. Смирнова, О. К. Абрамов, А. Ф. Рябуха, А. А. Спасов // **Волгоградский научно-медицинский журнал**. – 2022. - Т. 19. – № 2(82). – С. 48-52.

5. **Мальцев Д. В.** Оценка анксиолитического потенциала новых производных C²,C³-хиноксалина / Д. В. Мальцев, А. А. Спасов, М. О. Скрипка, М. В. Мирошников, Л. Н. Диваева, А. С. Морковник, А. А. Зубенко, А. И. Клименко // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета**. – 2022. - Т. 19. – № 2. – С. 135-143.

6. **Мальцев Д. В.** 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(83). – С. 110-115.

7. **Мальцев Д. В.** 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, М. О. Скрипка, Ю. Ю. Дементенко, Е. М. Черникова // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета**. – 2021. – № 1(77). – С. 131-136.

8. **Maltsev D. V.** Searching for new anxiolytic agents among derivatives of 11-dialkylaminoethyl-2,3,4,5-tetrahydrodiazepino[1,2-a]benzimidazole / D. V. Maltsev, A. A. Spasov, D. S. Yakovlev, P. M. Vassiliev, M. O. Skripka, M. V. Miroshnikov, K. T. Sultanova, A. N. Kochetkov, L. N. Divaeva, T. A. Kuzmenko, A. S. Morkovnik // **European journal of pharmaceutical sciences**. – 2021. – Vol. 161. – P. 105792. [Web of Science]

9. **Maltsev D. V.** 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 / D. V. Maltsev, A. A. Spasov, P. M. Vassiliev, M. O. Skripka, M. V. Miroshnikov, N. V. Eliseeva, Y. V. Lifanova, A. N. Kochetkov, T. A. Kuzmenko, L. N. Divaeva, A. S. Morkovnik // **Molecules**. – 2021. – Vol. 26. – No 19. – P. 6049. [Web of Science]

10. **Maltsev D. V.** 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, M. V. Miroshnikov, D. S. Yakovlev, K. T. Sultanova, M. A. Kochergin, L. N. Divaeva // **Research Results in Pharmacology**. – 2021. – Vol. 7. – No 2. – P. 31-37. [**Scopus**]
11. **Мальцев Д. В.** Оценка острой токсичности нового производного бензимидазола с антитромбогенными свойствами / А. А. Спасов, А. Ф. Кучерявенко, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников, В. С. Сиротенко, К. Т. Султанова, К. А. Гайдукова, М. О. Скрипка // **Токсикологический вестник**. - 2021. - № 1 (166). - С. 52-57.
12. **Мальцев Д. В.** Анксиолитическая активность производных 11H-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола и 2-меркаптобензимидазола / А. А. Спасов, О. Н. Жуковская, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников, М. О. Скрипка, К. Т. Султанова, А. С. Морковник // **Биоорганическая химия**. – 2020. – Т. 46. – № 1. – С. 92-100. [**Scopus**]
13. **Мальцев Д. В.** Анксиолитическая активность нового производного diaзепино[1,2-а]бензимидазола соединения ДАБ-19 / М. В. Мирошников, Д. В. Мальцев, А. А. Спасов, А. С. Таран, М. О. Скрипка, Е. О. Суркова, А. В. Гондарева, Л. Н. Диваева, А. С. Морковник // **Экспериментальная и клиническая фармакология**. – 2020. – Т. 83. – № 10. – С. 3-8. [**Scopus**]
14. **Мальцев Д. В.** Антидепрессивная активность и потенциальные механизмы действия производного diaзепинобензимидазола ДАБ-19 / А. А. Спасов, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников, А. С. Таран, Б. Р. Нурмагомедова, М. О. Скрипка, Т. А. Кузьменко, А. С. Морковник, Л. Н. Диваева // **Экспериментальная и клиническая фармакология**. – 2020. – Т. 83. – № 4. – С. 31-36. [**Scopus**]
15. **Maltsev D. V.** Influence of Diazepino[1,2-a]benzimidazole derivative (DAB-19) on behavioral aspects of animals / D. V. Maltsev, A. A. Spasov, M. V. Miroshnikov M. O. Skripka, L. N. Divaeva // **Research Results in Pharmacology**. – 2020. – Vol. 6. – No 3. – P. 9-14. [**Scopus**]
16. **Мальцев Д. В.** Синтез и фармакологическая активность производных C(2)-замещенных бензимидазола / О. Н. Жуковская, А. А. Спасов, Д. С. Яковлев, В. А. Косолапов, Д. В. Мальцев, А. С. Морковник, В. А. Бабкова, А. А. Бригадирова, Я. В. Агацарская, А. С. Таран, М. В. Мирошников, К. Т. Султанова, В. И. Корнилов, В. А.

Анисимова // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2019. – Т. 53. – № 3. – С. 10-15.
[Scopus]

17. **Мальцев Д. В.** Изучение анксиолитической активности новых производных диазепинобензимидазола под шифром ДАБ-21 и ДАБ-31 / М. В. Мирошников, Л. Н. Диваева, В. А. Анисимова, А. С. Морковник, М. О. Скрипка, Е. А. Золотова, Д. В. Мальцев, А. А. Спасов // **Экспериментальная и клиническая фармакология.** – 2018. – Т. 81. – № 5. – С. 160-161. [Scopus]

18. **Мальцев Д. В.** Анксиолитический потенциал нового ряда производных диазепинобензимидазола / А. А. Спасов, Л. Н. Диваева, Д. В. Мальцев, Т. А. Кузьменко, А. С. Морковник, М. В. Мирошников, А. С. Таран, Е. А. Золотова // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.** – 2018. – № 3(67). – С. 19-23.

19. **Мальцев Д. В.** Анксиолитические свойства соединения РУ-31 / К. Т. Султанова, Д. С. Яковлев, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников, Я. В. Морковина, В. А. Анисимова, А. С. Морковник // **Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.** – 2018. – № 3(67). – С. 28-32.

20. **Мальцев Д. В.** Поиск фармакологически активных соединений 2-диалкиламинобензимидазолов / О. Н. Жуковская, В. А. Анисимова, А. А. Спасов, Д. С. Яковлев, Н. А. Гурова, А. Ф. Кучерявенко, О. А. Салазникова, В. А. Кузнецова, Д. В. Мальцев, А. А. Бригадирова, Я. В. Морковина, О. А. Соловьева, В. В. Гурова, Е. В. Резников // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2017. – Т. 51. – № 3. – С. 20-24.
[Scopus]

21. **Мальцев Д. В.** Изучение анксиолитической активности в ряду новых производных диазепинобензимидазола на установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» / А. С. Таран, Д. В. Мальцев, Д. С. Яковлев, Т. В. Караваяева, Ю. О. Ткаченко, Л. Н. Диваева, А. С. Морковник, Т. А. Кузьменко // **Волгоградский научно-медицинский журнал.** – 2017. – № 1(53). – С. 24-26.

ПАТЕНТЫ

1. **Мальцев Д. В.** 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 / Л. Н. Диваева, А. А. Спасов, Д. В.

Мальцев, Т. А. Кузьменко, А. С. Морковник, Д. С. Яковлев, А. С. Таран, В. И. Петров, М. В. Богославцева // Патент на изобретение RU 2636785 С1, 01.12.2017.

2. **Мальцев Д. В.** 11-(4-трет-Бутилбензил)- и фенацилзамещённые 2, 3, 4, 5-тетрагидро[1, 3]дiazеино [1, 2-а]бензимидазола, обладающие анксиолитической активностью / Л. Н. Диваева, А. А. Спасов, В. И. Петров, Т. А. Кузьменко, А. С. Морковник, Д. С. Яковлев, Д. В. Мальцев, А. С. Таран, В. А. Анисимова // Патент на изобретение RU 2629022 С1, 24.08.2017.

3. **Мальцев Д. В.** Гидробромид 11-(4-трет-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола, обладающий анксиолитической и противосудорожной активностью / Л. Н. Диваева, А. А. Спасов, Т. А. Кузьменко, Д. В. Мальцев, А. С. Морковник, А. С. Таран, В. И. Петров // Патент на изобретение RU 2662242 С1, 25.07.2018.

4. **Мальцев Д. В.** Соединения с анксиолитической активностью / П. М. Васильев, Д. В. Мальцев, М. А. Перфильев, А. А. Спасов, М. О. Скрипка, А. Н. Кочетков // Свидетельство о государственной регистрации базы данных RU 2022621744, 15.07.2022.

5. **Мальцев Д. В.** Блокатор ионотропных глутаматных рецепторов / О. И. Барыгин, М. Ю. Дронь, Л. Н. Диваева, А. С. Морковник, В. С. Сочнев, А. А. Спасов, Д. В. Мальцев // Патент на изобретение RU 2800550, 24.07.2023.

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

МАЛЬЦЕВ ДМИТРИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

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

3.3.6 – Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук