

На правах рукописи

Горбунова Юлия Васильевна

**ПСИХОТРОПНАЯ И
НЕЙРОПРОТЕКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ
НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНАЗОЛИНА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Волгоград, 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: Тюренков Иван Николаевич - заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

Научный консультант: Озеров Александр Александрович - доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Воронина Татьяна Александровна - заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией психофармакологии ФГБНУ НИИ фармакологии имени В.В. Зукосова

Каленикова Елена Игоревна - доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела Факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Ведущее учреждение:

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Защита диссертации состоится "___" _____ 2020 г. в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан "___" _____ 20__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета, доктор биологических наук

Бугаева Любовь Ивановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Согласно данным ВОЗ распространенность психических и неврологических нарушений неуклонно растёт и достигает по численности во всем мире более миллиарда больных [https://gateway.euro.who.int/ru/indicators/hfa_391-2410-prevalence-of-mental-disorders/] (дата обращения 01.07.2019)]. В настоящее время имеющиеся лекарственные препараты не в полной мере удовлетворяют современным требованиям при лечении психических и неврологических расстройств, либо являются недостаточно эффективными, или в связи с побочными эффектами, влияющими на качество жизни [de Kinderen R.J., 2014; Alberti P., 2014; Grupke S., 2015; Creamer M., 2018; Nag N., 2019; Данилов В.И., 2014]. Частой причиной или следствием деменции, дефицитарных и психотических нарушений являются различные патологии мозгового кровообращения и перенесенный инсульт [Стаховская Л.В., 2014; Wanleenuwat P., 2019; Escher C., 2019; Zhang L., 2019; Arvanitakis Z., 2019]. Ежегодно в мире от инсульта погибают около 5 млн человек и 15 млн переносят не фатальный инсульт [Feigin V.L., 2015; Samorodskaya I.V., 2018; Pinheiro L.C., 2019]. Поэтому одним из современных направлений в поиске и создании новых препаратов для лечения цереброваскулярных заболеваний и сопутствующих им психоэмоциональных и когнитивных нарушений является разработка препаратов с поливалентным действием [Speck-Planche A., 2015; Кожинова А. В., 2015; Чичёва М.М., 2017; Соснов А.В., 2017; Gontijo V.S., 2019; Bellera C.L., 2019; Wang T., 2019].

Природные и синтетические производные хиназолина, имеют широкий спектр фармакологической активности: противовоспалительное, [Волошина А.Д., 2017; Haile P.A., 2019; Hu J., 2015; Moussa G., 2018] антихолинэстеразное [Sarfraz M., 2017; Gálvez J., 2018; Cai R., 2019], антиоксидантное [Al-Salahi R., 2018; Sivaguru P., 2017; Chaudhari P.S., 2018], антигипоксическое [Cheng W., 2014; Cheng W., 2015], ноотропное [Герашенко А.Д., 2017], антидепрессантное [Zhang H.J., 2015], вазодилатирующее, антигипертензивное [Sen Li., 2016; Belenichev I., 2018; Pathak S.R., 2014; Mujeeb Ur Rahman, 2014], антипсихотическое и противосудорожное действие [Zhang H.J., 2015; El Kayal W.M., 2019] и являются привилегированным классом химических соединений для поиска среди новых производных этого ряда эффективных средств для лечения психоневрологических, сердечно-сосудистых и других патологий [Sadek B., 2016; Kubacka M., 2019].

В связи с вышеизложенным, поиск высокоэффективных и безопасных веществ среди природных и синтетических производных в химическом классе хиназолинов для лечения психических и неврологических расстройств и патологий нарушения мозгового кровообращения, представляется перспективным и целесообразным [Zuo S.J., 2014; Джигалюк О.В., 2019].

Степень разработанности темы

За последние годы проведено множество исследований, посвящённых изучению различных видов биологической активности производных хиназолина [Ding P.P., 2016; El-Messery S.M., 2016; Самотруева М.А., 2016; El-Gazzar Y.I., 2017; Григорян Н.П., 2017,

2018; Saravanan G., 2018; Насруллаев А.О., 2017; Hemalatha K., 2016; Волокитина Д.С., 2018; Джигалюк О.В., 2019; Long S., 2019; Бурчинский С.Г., 2015], но спектр психотропного и нейропротективного действия простых эфиров, амидных производных и сложнзамещенных амидных производных хиназолин-4(3H)-она не изучен. Это дает основание считать, что целенаправленный поиск в ряду новых производных хиназолин-4(3H)-она веществ с нейропсихотропным и церебропротективным действием является целесообразным.

Целью настоящего исследования является поиск соединений в ряду новых производных хиназолин-4(3H)-она с нейропсихотропными и нейропротективными свойствами (при нарушениях мозгового кровообращения), а также изучение некоторых аспектов их механизма действия.

Для достижения вышеуказанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести скрининг в группах простых эфиров, амидных производных и сложнзамещенных амидных производных хиназолин-4(3H)-она веществ с нейропсихотропным действием.

2. Изучить антиамнестическое, анксиолитическое и антигипоксическое действие наиболее активных производных хиназолин-4(3H)-она.

3. Определить острую токсичность, провести анализ зависимости фармакологического эффекта от дозы для наиболее активных производных хиназолин-4(3H)-она.

4. Изучить влияние соединения VMA-10-18 на неврологический дефицит, психоэмоциональное состояние, сенсорно-моторные и когнитивные функции у животных, перенесших острое и хроническое нарушение мозгового кровообращения.

5. Изучить влияние соединения VMA-10-18 на мозговой кровоток (МК), эндотелий-зависимую вазодилатацию и потребление мозговой тканью глюкозы при хроническом нарушении мозгового кровообращения (НМК).

6. Провести нейрохимический анализ возможного механизма действия соединения VMA-10-18, обладающего наиболее выраженной психотропной и нейропротективной активностью.

Научная новизна

Впервые получены данные о спектре психотропного действия 17 новых производных хиназолин-4(3H)-она и выявлены у ряда веществ ноотропные, анксиолитические, антидепрессантные, антигипоксические свойства.

Впервые выявлена и изучена высокая нейропротективная активность нового производного хиназолина – соединения - 3-[2-оксо-2-[(4-метоксифенил)амино]этил] хиназолин-4(3H)-он под лабораторным шифром VMA-10-18, его нейропротективное действие при остром и хроническом нарушении мозгового кровообращения, антигипоксическое, эндотелиопротективное действие.

Впервые проведено изучение возможного механизма нейро- и психотропного действия соединения VMA-10-18.

Теоретическая и практическая значимость работы

Скрининговое исследование позволило определить спектр психотропной активности 3-х новых подгрупп: простых эфиров, амидных и сложнзамещенных амидных производных хиназолина, выявить наиболее эффективное вещество (VMA-10-18) и его оптимальные дозы, в котором оно оказывало антидепрессантное, анксиолитическое, ноотропное и нейропротективное действие. Высокий терапевтический потенциал при остром и хроническом НМК (вещество активно в дозе 2,5-5-10 мг/кг), а также низкая токсичность (более 5 г/кг при приеме *per os*), свидетельствует о перспективности разработки на его основе лекарственного препарата для профилактики и лечения острых и хронических нарушений мозгового кровообращения и сопутствующих им нейро- и психических патологий. Это позволило в рамках Федеральной программы «Фарма 2020» получить финансовую поддержку и провести в полном объеме химикам и фармакологам ВолгГМУ доклинические исследования по государственному контракту № 14.N08.12.0142 от «02» июня 2017 г. «Доклинические исследования лекарственного средства для лечения нарушений мозгового кровообращения на основе производного хиназолина» с Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

Полученные данные о цереброваскулярном, нейропротективном, психотропном и возможном нейропротективном действии исследуемого производного хиназолина 3-[2-оксо-2-[(4-метоксифенил)амино]этил]хиназолин-4(3H)-он свидетельствуют о его полимодальном и политаргетном действии. Результаты выполненного исследования свидетельствуют о перспективности дальнейшего направленного химического синтеза и поиска в ряду новых производных хиназолина веществ с психотропной и нейропротекторной активностью.

Методология и методы исследования

При проведении экспериментальных работ использовался комплексный подход к оценке фармакологической активности производных хиназолина в соответствии с рекомендациями «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [Миронов А.Н. и др., 2012]. Исследования выполнены с соблюдением этических норм работы с лабораторными животными, при необходимом количестве экспериментальных животных с применением валидных экспериментальных моделей на оборудовании, отвечающим поставленным задачам. Выводы сделаны на основании собственных исследований и сопоставлении их с литературными данными.

Положения, выносимые на защиту

1. Простые эфиры, но в большей степени амидные производные хиназолин-4(3H)-она обладают выраженными психотропными свойствами (анксиолитическим, антидепрессивным и ноотропным действием).

2. Среди эфиров амидных производных хиназолин-4(3H)-она выделено соединение с лабораторным шифром VMA-10-18, которое оказывает выраженное анксиолитическое, антидепрессивное, ноотропное, антигипоксическое и нейропротективное действие при острых и хронических НМК, повышая показатели выживаемости животных и уменьшая неврологические нарушения.

3. Психотропные эффекты соединения VMA-10-18 обусловлены активацией ГАМК-ергической и М-холинергической системой мозга (ноотропное) и дофаминергическим действием (активирующее и антидепрессивное).

4. Нейропротективные свойства соединения VMA-10-18 обусловлены улучшением МК, связанным с улучшением эндотелийзависимой вазодилатации, его антигипоксическими и антиоксидантными свойствами.

Личный вклад автора

Автор принимал активное участие на всех этапах планирования, разработки дизайна исследования и выполнения экспериментальной части работы, статистической обработке и описании полученных данных, а также в подготовке и написании опубликованных по теме диссертации работ, в написании диссертации и автореферата. Проведен скрининг среди 17-ти производных хиназолина, проведено углубленное изучение психотропных эффектов и нейропротективного действия наиболее активного соединения при острых и хроническом нарушениях мозгового кровообращения. Автором проведен анализ литературных данных за последние 5 лет, касающихся темы диссертации.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов подтверждается достаточным объемом выполненных исследований с использованием современных методов, оборудования и общепринятых методов статистической обработки. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на многих научно-практических конференциях: 69-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием – Волгоград, 2011 г., IV съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» - Казань, 2012 г., IV Всероссийском научно-практическом семинаре молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств» - Волгоград, 2012 г., 71-ой открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» - Волгоград, 2013г., V-ом съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» - Ярославль, 2018 г.

Публикации: по теме диссертации опубликовано 24 печатных работы, из них 8 в журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 183 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, 3 главы собственных исследований, заключение, научно-практических рекомендаций, выводы и список используемой литературы, включает 170 источников, из них 63 отечественных и 107 зарубежных. Диссертация содержит 61 таблицу, 17 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **первой главе** (обзор литературы) представлены биологические эффекты природных и синтетических производных хиназолина, их структура и активность. Так же проведен патентный поиск среди производных хиназолина, которые по структуре наиболее схожи с исследуемыми соединениями и представлены основные патенты, где ряд производных хиназолина проявляют антиоксидантное, антигипоксическое, ноотропное, вазодилатирующее, противовоспалительное, антигипертензивное и другие фармакологические эффекты. На основе анализа работ, связанных с синтезом и изучением биологической активности различных производных хиназолина, можно заключить, что поиск биологически активных веществ в ряду производных хиназолина является обоснованным и перспективным.

Во **второй главе** дано описание материалов и методов, использованных в настоящем исследовании. Эксперименты проводились на беспородных самцах крысах и мышах, содержащихся в стандартных условиях вивария, согласно Приказу 267 МЗ РФ от 19.06.2003 «Об утверждении правил надлежащей практики», ГОСТу Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985)» и Рекомендациям ВОЗ. Исследования одобрены этическим комитетом (протокол №153-2012). Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»» РАМН (Ленинградская область) и содержались с учетом правил Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

В работе изучена психотропная активность 17 новых производных хиназолина под лабораторным шифром VMA, синтезированных на кафедре фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Производные хиназолин-4(3H)-она, согласно химической структуре, были разделены на 3 группы: простые эфиры, амидные производные и сложнзамещенные амидные производные хиназолин-4(3H)-она.

На этапе скрининга исследуемые соединения вводились внутривентрикулярно в дозах 1/30 от молекулярной массы (мг/кг). При углубленном изучении нейро-психотропных свойств наиболее активных соединений проводились в широком диапазоне доз. Субстанцию веществ растворяли *ex tempore* в 2% крахмальном геле, введение осуществляли с помощью специального внутривентрикулярного зонда для крыс и мышей.

В качестве препаратов сравнения ноотропного и активирующего действия использовался: фенотропил¹ – 22 мг/кг (синтезирован на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.Н. Герцена (Санкт-Петербург, Россия)), антидепрессивного - мелипрамин – 15 мг/кг, (Egis Pharmaceuticals, Венгрия), анксиолитического - диазепам – 1 мг/кг (Simplex pharma Pvt. Ltd., Индия),

¹ Искренне благодарим химиков Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена (г. Санкт-Петербург) О.С. Васильеву за предоставленную субстанцию фенотропила.

антигипоксического - мексидол – 100 мг/кг («НПК Фармасофт», Россия), нейропротективного - цитиколин - в дозе 500 мг/кг (Феррер Интернасьональ С.А.), и глиатилин – 100 мг/кг (Италфармако С.п.А.), кавинтон - 5 мг/кг (Гедеон Рихтер ОАО).

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

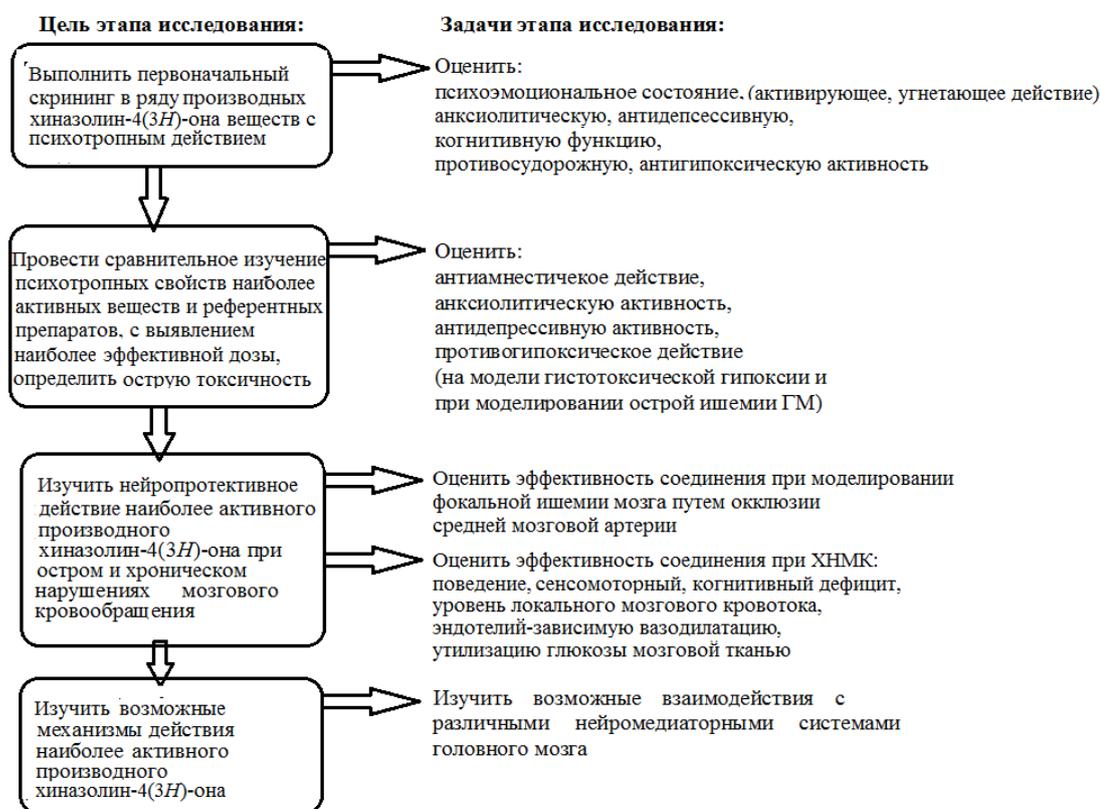


Рисунок 1. Дизайн экспериментального изучения психотропного и нейропротективного действия новых производных хиназолин-4(3H)-она

На первом этапе для изучения психотропных свойств производных хиназолина следующие тесты: «Открытое поле» (ОП) [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012]; «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012]; «Черно-белая камера» (ЧБК) [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012] [Воронина Т.А. и др., 2005]; «Конфликтной ситуации» (Vogel) [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012]; Порсольт [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012] [Андреева Н.И., 2005; Калуев А.В., 2006; Porsolt R.D., Pinchon M.Le, Jalfre M., 1977]; «Подвешивание мышей за хвост» (ПМХ) [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012] [В.Л. Козловский, И.В. Прахье, 1996; Козловский В.Л. и др., 2008; Steru L. et al., 1985].

Для изучения влияния ряда исследуемых соединений на когнитивную и мнестическую функцию использовались тесты: «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) [Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П., 1991; Воронина Т.А., Островская Р.У., 2000]; «Экстраполяционного избавления» (ТЭИ) [Бондаренко Н.А., и др., 2003; Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012].

Изучение противосудорожного действия выполнено на модели хемоиндуцированного эпилептогенеза, вызванного введением коразола [Воронина Т.А.,

2000,2012; Островская, Р.У., 2012], антигипоксической активности модели острой генерализованной гипоксии: нормобарической гипоксии с гиперкапнией [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012], гемической гипоксии [Воронина Т.А. и др., 2005].

После скрининговых исследований были отобраны наиболее активные соединения из трех групп для выявления «лидера» с наиболее выраженной ноотропной активностью был использован тест хемоиндуцированной скополаминовой амнезии [Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П., 1991; Воронина Т.А., Островская Р.У., 2000]; анксиолитической активностью – тест «Конфликтной ситуации» (Vogel) [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012]; антидепрессивной - тест «Принудительного плавания по Порсольт» [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012; Porsolt R.D., Pinchon M.Le, Jalfre M., 1977]; противогипоксической активностью - тест тканевой гипоксии [Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012].

Среди наиболее активных соединений был выявлен лидер - соединение с лабораторным шифром VMA-10-18 с выраженным ноотропным, антигипоксическим, анксиолитическим и нейропротективным действием. Дальнейшее изучение нейропротективных свойств наиболее активного соединения VMA-10-18 проводилось в дозах 2,5; 5 и 10 мг/кг на модели необратимой двусторонней перевязки общих сонных артерий (ОСА) [Yamamoto M., 1983; Сернов Л.Н., 2000] с оценкой выживаемости и неврологического дефицита по шкалам McGraw, Combs and D'Alecy проводилась через 6, 12, 24, 48 часов после перевязки ОСА. Также проводилась оценка координации движений в тесте «Ротарод» путем регистрации времени удержания на вращающемся стержне за 3 попытки [Bohlen M., 2009] и мелкой моторики в адгезивном тесте, двигательная и ориентировочно-исследовательская активность в тесте ОП.

Проведение исследований изучения острой токсичности VMA-10-18 было выполнено согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под ред. Хабриева, 2005; Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012. Для расчета величины токсикологического показателя – LD₅₀ использовали пробит-анализ выживаемости.

На втором этапе работы изучения нейропротекторного действия соединения VMA-10-18 проводилось с использованием следующих моделей нейропсихопатологии: - модель фокальной ишемии путем необратимой окклюзии средней мозговой артерии² (ОСМА) с регистрацией показателей неврологического дефицита по шкалам Garsia и Combs and D'Alecy, теста «Ротарод», адгезивного теста, теста ОП; оценкой когнитивного дефицита в тестах УРПИ и ТЭИ; оценкой мозгового кровотока и зоны некротического повреждения головного мозга.

Хроническое нарушение мозгового кровообращения (ХНМК) вызывалось окклюзией сонных артерий с ограничением кровотока в них на 50% с последующей через 14 дней после моделирования ХНМК, а затем через 14 дней введения животным

² Выражаем благодарность с.н.с. лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств, д.ф.н. Д.В. Куркину, с.н.с. лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств, к.м.н. Д.А. Бакулину и соискателю кафедры фармакологии и биофармации ФУВ Д.В. Верхоляку за помощь в проведении экспериментальных работ в рамках диссертации.

соединения VMA-10-18 и препарата сравнения – глиатилин, оценкой ориентировочно-исследовательской активности в тестах ОП, ПКЛ; депрессивного поведения - в тесте «Принудительного плавания по Порсольту», памятного следа при помощи тестов УРПИ, ТЭИ и «Барнс», а также оценкой мышечного тонуса – тест «Ротарод», и мелкой моторики – адгезивный тест. После психотропных, поведенческих тестов, проводили оценку уровня локального мозгового кровотока (МК) в месте наложения лигатур с помощью ультразвукового доплерографа (Минимакс). В проекции средней мозговой артерии – с помощью лазерного доплерографа *Віорас Systems, Inc.*, США. Оценку состояния эндотелия сосудов головного мозга осуществляли по изменениям уровня мозгового кровотока в ответ на введение модификаторов синтеза эндогенного оксида азота (NO) [Тюренок И.Н., Воронков А.В., 2008]. Потребление глюкозы головным мозгом определялось по разнице концентрации глюкозы в артериальной и венозной крови глюкозоксидазным методом, согласно инструкции фирмы-производителя набора «Глюкоза-ФКД» (ООО «Фармацевтика и клиническая диагностика», Россия) и с использованием тест-полосок (CONTOUR TS Bayer).

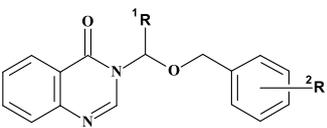
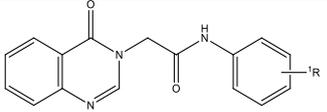
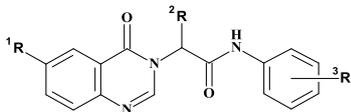
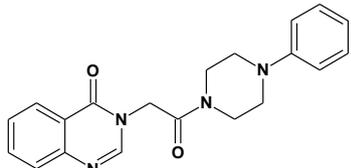
Нейрофармакологический анализ возможных механизмов действия соединения VMA-10-18 был проведен с помощью изучения возможного взаимодействия с агонистами и антагонистами рецепторов основных нейромедиаторов ЦНС: с дофаминергической системой - по стереотипному поведению, вызванному агонистом постсинаптических дофаминовых рецепторов – апоморфина [Раевский К.С. и др., 2005; Епишина В.В., 2006; Меркушенкова О.В., 2009], на каталептогенный эффект галоперидола [Воронина Т.А. и др., 2005; Епишина В.В., 2006; Меркушенкова О.В., 2009]; с холинергической системой – по ареколиновому и никотиновому тремору [Воронина Т.А. и др., 2005; Епишина В.В., 2006; Меркушенкова О.В., 2009]; с серотонинергической системой - влияние на 5-окситриптофан индуцированный гиперкинез [Раевский К.С. и др., 2005]; с ГАМК-ергической системой - судороги, вызванные пикротоксином при подкожном введении [Т.А. Воронина, Л.Н. Неробкова, 2005] и бикикулином [Воронина Т.А., Неробкова Т.Н., 2000].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакетов программ: Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft, США), Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США), BioStat 2008 Professional 5.1.3.1.. Для проверки распределения на нормальность использовали критерий Шапиро-Уилка. При подчинении данных нормальному распределению использовался дисперсионный анализ и параметрический t-критерий Стьюдента, с поправкой Бонферрони, непараметрические данные оценивались с использованием метода рангового однофакторного анализа Краскела-Уолиса и критерий Дана. Категориальные данные оценивались с использованием хи-квадрат. При более углубленном изучении наиболее активного соединения различия при $p < 0,05$ расценивались как статистически значимыми [Гланц С., 1999; Реброва О.Ю., 2006].

В **третьей главе** представлены результаты собственных исследований изучения психотропной активности 3-х групп новых производных хиназолин-4(3H)-она. В ходе проведенного фармакологического скрининга среди производных простых эфиров,

амидных производных и сложнзамещенных амидных производных с различными заместителями были выявлены наиболее активные соединения.

Таблица 1 - Лабораторные шифры, структурные формулы и выявленная биологическая активность производных хиназолин-4(3H)-она

1 группа: простые эфиры производных хиназолин-4(3H)-она					
	Шифр	R ¹	R ²		Активность
	VMA-10-06	H	H		-
	VMA-10-03	H	3-CH ₃ , 5-CH ₃		антидепрессантная, ноотропная, противосудорожная
	VMA-10-04	H	3-CH ₃ , 5-CH ₃		антидепрессантная
	VMA-10-05	CH ₃	H		анксиолитическая, ноотропная, противосудорожная
2 группа: амидные производные хиназолин-4(3H)-она					
	Шифр		R ¹		Активность
	VMA-10-11		H		антидепрессантная, противогипоксическая
	VMA-10-13		2-CH ₃		противосудорожная, противогипоксическая
	VMA-10-14		4-CH ₃		противогипоксическая
	VMA-10-18		4-OCH ₃		анксиолитическая, антидепрессантная, ноотропная, противосудорожная, противогипоксическая
	VMA-10-10		4-N(CH ₃) ₂		-
	VMA-10-07		2-CH ₃ , 6-CH ₃		-
	VMA-10-19		2-CH ₃ , 4-NO ₂		-
	VMA-10-16		2,3-фенилен		ноотропная, противогипоксическая
	3 группа: сложнзамещенные амидные производные хиназолин-4(3H)-она				
	Шифр	R ¹	R ²	R ³	Активность
	VMA-10-12	H	CH ₃	H	-
	VMA-10-15	H	CH ₃	4-CH ₃	-
	VMA-10-20	H	CH ₃	4-N(CH ₃) ₂	анксиолитическая
	VMA-10-17	Br	H	2,3-фенилен	противогипоксическая
	VMA-10-21				анксиолитическая, антидепрессантная, противосудорожная, противогипоксическая

В четвертой главе представлены результаты углубленного изучения ноотропной, антидепрессантной, анксиолитической и антигипоксической активности среди наиболее активных производных хиназолин-4(3H)-она для выявления соединения-лидера (Таблица 2).

Таблица 2 - Наиболее активные производные хиназолин-4(3H)-она, выявленные при углубленном изучении

Фармакологическая активность	Производные хиназолин-4(3H)-она		
	группа простых эфиров	группа амидных производных	группа сложнзамещенных амидных производных
Ноотропная (модель скополаминовой амнезии)	-	VMA-10-18	-
Анксиолитическая в варианте Vogel	VMA-10-05	VMA-10-18	VMA-10-21, VMA-10-20
Антидепрессивная (модель плавания по Порсольт)	-	VMA-10-18	VMA-10-21
Противогипоксическая (модель тканевой гипоксии)	-	VMA-10-18	-

На основании полученных данных для дальнейших исследований нейропротективной активности было выбрано производное хиназолина 3-[2-(4-метоксифениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-он с лабораторным шифром VMA-10-18, так как оно оказывало наиболее выраженное анксиолитическое, антидепрессивное, ноотропное, противосудорожное и противогипоксическое действие. Дополнительно было изучено нейропротективное действие этого соединения при ишемии головного мозга, вызванной необратимой перевязкой общих сонных артерий (ОСА).

О нейропротекторном действии соединения VMA-10-18 в различных дозах судили по выживаемости и динамике неврологического дефицита после острой ишемии головного мозга при ОСА. Установлено, что данное вещество вдвое повышает выживаемость животных, после ОСА.

Таблица 3 - Влияние на выживаемость животных после двусторонней перевязки ОСА

Группы/ количество животных	Доза, мг/кг	Выживаемость, %			
		6 часов	12 часов	24 часа	48 часов
ЛО+2% крахмальный гель	-	100	100	100*	100*
ОСА + 2% крахмальный гель	-	100	80	60	47
ОСА + VMA-10-18	2,5	100	100	93*	93*
	5	100	100	93*	93*
	10	100	87	87	87
ОСА + Кавинтон	5	100	100	93*	93*

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы контроль-ишемия; ОСА – общие сонные артерии, $n=15$.

Патологическим симптомокомплексом при ишемическом поражении ЦНС является повышение неврологического дефицита, снижение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности и нарушение координации движения.

Таблица 4 – Влияние на выраженность неврологического дефицита по шкале McGraw у животных после двусторонней перевязки ОСА

Показатели / группы	Доза, мг/кг	Балл по шкале McGraw			
		6 часов	12 часов	24 часа	48 часов
ЛО+2% крахмальный гель	-	0,6±0,20	0,5±0,20	0,3±0,20	0,3±0,20
Перевязка ОСА + 2% крахмальный гель	-	5,6±0,60	5,4±0,60	6,8±0,90	6,9±0,90
Перевязка ОСА+VMA-10-18	2,5	4,0±0,70	4,4±0,20	3,8±0,50*	4,1±0,50*
	5	4,4±0,60	4,6±0,60	4,1±0,70*	4,3±0,70*
	10	4,7±0,50	4,4±0,70	4,4±0,80	5,3±0,60
Перевязка ОСА + Кавинтон	5	5,0±0,40	3,8±0,40*	3,7±0,60*	3,9±0,60*

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы ложнооперированных животных (критерий Дана); ОСА – общие сонные артерии.

У животных, получавших исследуемое вещество, контрольной группы ЛО и контрольной группы без лечения, комплексно оценивали двигательную активность в тесте ОП и динамику неврологического дефицита по шкалам McGraw, Combs and D'Alecy. Данные представлены в таблицах (Таблица 4, Таблица 5, Таблица 6).

Таблица 5 – Влияние на выраженность неврологического дефицита в баллах по шкале Combs and D'Alecy у животных после двусторонней перевязки ОСА

Показатели / группы	Доза, мг/кг	Балл по шкале Combs и D'Alecy			
		6 часов	12 часов	24 часа	48 часов
ЛО+2% крахмальный гель	-	3,7±0,40	6,2±0,60	7,5±0,40	8,2±0,30
Перевязка ОСА + 2% крахм.гель	-	2,6±0,40	2,5±0,50	2,2±0,50	2,1±1,00
Перевязка ОСА+ VMA-10-18	2,5	2,9±0,30	3,5±0,20	4,9±0,40*	5,9±0,40*
	5	3,0±0,40	3,8±0,40	5,2±0,60*	5,7±0,50*
	10	2,1±0,30	3,2±0,30	3,4±0,30	4,5±0,80
Перевязка ОСА + Кавинтон	5	3,1±0,30	4,5±0,40*	5,8±0,60*	6,4±0,60*

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы ложнооперированных животных (критерий Дана); ОСА – общие сонные артерии.

У выживших животных контрольной группы неврологический дефицит нарастал, а у животных, получавших соединение VMA-10-18 и препарат сравнения – кавинтон, от 6-го часа к 48 часу он статистически значимо снижался, и у них были выше показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности (Таблица 6).

Таблица 6 - Влияние соединения VMA-10-18 на показатели поведения животных в тесте ОП и время удержания на вращающемся стержне в тесте Ротарод через 48 часов после двусторонней перевязки ОСА

Показатели/ группы	Доза, мг/кг	Показатели в ОП		Показатели в «Ротарод»	
		ДА	ОИА	ЛП	Тобщ
ЛО+2% крахмальный гель	-	37,9±1,40*	52,6±4,70*	46,9±3,40*	83,2±4,10*
Перевязка ОСА+2% крахм.гель	-	15,4±1,50	20,4±2,80	6,7±2,20	13,1±2,10
Перевязка ОСА+VMA-10-18	2,5	32,6±2,30*	30,3±2,80*	7,6±2,00	63,4±4,80*
	5	19,6±1,70	33,8±3,70*	16,5±3,10*	66,0±5,40*
	10	15,7±2,50	20,1±3,10	12,9±1,80*	58,5±5,40*
Перевязка ОСА+Кавинтон	5	31,4±2,00*	35,7±3,20*	25,5±3,90*	46,4±3,60*

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы ложнооперированных животных (критерий Дана); ДА-двигательная активность; ОИА-ориентировочно-двигательная активность; ЛП – время первого падения; Тобщ. – общее время удержания за 3 попытки (с); ОСА – общие сонные артерии.

Таким образом, при моделировании ОСА установлено, что введение соединения VMA-10-18 во всех исследуемых дозах, но более выраженное в дозах 2,5 и 5 мг/кг, вдвое повышает выживаемость животных, по сравнению с группой контроль-ишемия (Таблица 3), уменьшает выраженность неврологических нарушений (Таблица 4, Таблица 5) у животных, получавших за 24 часа до моделирования, и через 24 часа после моделирования, исследуемое вещество и препарат сравнения кавинтон, регистрировалась более высокая двигательная и ориентировочно-исследовательская активность, сила и координация движений (Таблица 6).

Изучение острой токсичности соединения VMA-10-18 было проведено на мышях и крысах. В связи с отсутствием гибели животных, которым внутрижелудочно вводилось исследуемое соединение в максимальной дозе 5000 мг/кг, величина ЛД₅₀ соединения

VMA-10-18 была принята условно 5000 мг/кг, что позволяет отнести его к классу малотоксичных соединений [Саноцкий И.В., Уланова И.П., 1975].

В пятой главе рассмотрены данные углубленного исследования нейротективного действия соединения VMA-10-18 на модели фокальной ишемии головного мозга и при ХНМК. При фокальной ишемии, которая вызывалась путем необратимой окклюзии средней мозговой артерии оценивали зону некроза, неврологический, поведенческий дефицит и уровень мозгового кровотока.

Неврологические нарушения, в группах, получавших VMA-10-18 в дозе 5 мг/кг и цитиколин, были выражены в меньшей степени, чем у животных группы контроль-ишемия (Таблица 7).

Таблица 7 - Выраженность неврологического дефицита по шкалам Combs and D'Alecy и Garcia у животных через 48 часов после моделирования ОСМА

Показатели / группы	Дозы, мг/кг	Combs and D'Alecy	Garcia
ЛО+2% крахмальный гель	-	8,8±0,2*	17,8±0,2*
ОСМА+2% крахмальный гель	-	5,2±0,6	6,8±0,8
ОСМА+VMA-10-18	2,5	6,0±0,5	8,2±0,9
	5	7,3±0,6*	9,7±0,9*
	10	5,8±0,6	5,2±0,8
ОСМА+Цитиколин	500	7,8±0,7*	11,8±1,5*

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю контрольной группы; ОСМА – окклюзия средней мозговой артерии.

При оценке поведения животных, получавших VMA-10-18 в дозе 5 мг/кг и цитиколин, в тестах ОП, «Ротарод» и адгезивном тесте, регистрировались более высокие показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, силы и координации движений быстрее обнаруживали и удаляли инородный предмет с волярной поверхности лап, по сравнению с группой контроль-ишемия (Таблица 8).

Таблица 8 – Влияние соединения VMA-10-18 на показатели двигательной и исследовательской активности животных в тесте ОП и Ротарод через 48 часов после моделирования ОСМА

Показатели / группы	Доза, мг/кг	Показатели в ОП		Показатели в «Ротарод»		Показатели в адгезивном тесте		
		ДА	ОИА	ЛП	Тобщ	ЛП	T1	T2
ЛО+2% крахм.гель	-	25,7±5,70*	24,0±2,5*	71,7±7,4*	132,5±14,4*	18,8±2,50	26,7±2,40	25,0±2,90
ОСМА+2%крахм.гель	-	10,0±1,90	4,2±1,70	7,2±2,30	47,6±11,70	114,5±29,60	120,3±26,80	138,0±19,30
ОСМА+VMA-10-18	2,5	24,7±3,80*	9,0±1,30*	21,5±3,20	76,2±3,20	90,6±28,50	98,0±26,40	118,7±27,50
	5	20,0±2,10*	13,2±3,10*	29,3±5,70*	92,7±8,60*	32,2±6,20*	36,0±6,20*	59,0±24,40
	10	11,8±2,20	6,0±1,90	13,8±2,90	65,5±5,90	108,3±27,70	113,3±25,60	128,7±20,00
ОСМА+Цитиколин	500	15,5±1,40*	13,2±2,80*	32,2±6,70	100,3±8,70*	38,0±6,30*	49,2±6,80	69,0±7,40

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы ложнооперированных животных (критерий Дана); ДА-двигательная активность; ОИА – ориентировочно-исследовательская активность; ЛП – время первого падения (с); Тобщ. – общее время удержания за 3 попытки (с); ЛП – латентный период обнаружения инородного предмета в с; T1 – время снятие инородного тела с левой лапы; T2 – время снятие инородного тела с правой лапы; ОСМА – окклюзия средней мозговой артерии.

В тестах УРПИ и ТЭИ через 48 часов после ОСМА животные, которые получали VMA-10-18 в дозах 2,5 и 5 мг/кг, а также препарат цитиколин, реже заходили в темный

отсек (в УРПИ) и затрачивали меньше времени на решение экстраполяционной задачи (в ТЭИ), что свидетельствует о меньшем нарушении у них когнитивных функций.

Таблица 9 – Влияние соединения VMA-10-18 на поведение животных в тесте УРПИ и ТЭИ через 48 часов после моделирования ОСМА

Показатели / группы	Доза, мг/кг	Показатели в УРПИ		Показатели в ТЭИ	
		ЛП захода, с	Число заходов	ЛП подныривания, с	Число прыжков
ЛО+2% крахмальный гель	-	180,0±0,00	0,0±0,00	11,8±2,10*	2,8±0,60*
ОСМА+2% крахмальный гель	-	51,4±5,80	0,8±0,40	133,6±29,80	23,7±5,10
ОСМА+ VMA-10-18	2,5	116,5±35,10	0,5±0,20	66,3±36,00	6,3±1,40*
	5	127,7±33,30	0,3±0,20	36,2±12,20*	4,2±0,40*
	10	106,2±34,60	0,5±0,20	46,0±5,30*	4,0±1,10*
ОСМА+Цитиколин	500	124,8±34,90	0,3±0,20	38,4±9,10	4,6±1,20

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы ложнооперированных животных (критерий Дана); ЛП захода – латентный период захода животного в темный отсек в тесте УРПИ; ЛП – латентный период в тесте ТЭИ; ОСМА – окклюзия средней мозговой артерии, $n=6$.

При определении зоны некроза по цифровым фотографиям срезов и показателей мозгового кровообращения (МК) установлено, что зона некроза у животных, получавших соединение VMA-10-18 в дозе 2,5 и 5 мг/кг и цитиколин была статистически значимо меньше, а мозговой кровотока выше, чем у животных контрольной группы ОСМА (Таблица 10).

Таблица 10 - Уровень мозгового кровотока и размер зоны некроза мозговой ткани у животных через 48 часов после моделирования ОСМА

Показатели / группы	Доза, мг/кг	Мозговой кровотока	Объем зоны некроза (%)
ЛО+2% крахмальный гель	-	54,2±3,00*	0,0±0,00*
ОСМА+2% крахмальный гель	-	18,5±1,70	26,3±3,20
ОСМА+ VMA-10-18	2,5	23,3±1,60	18,8±2,80
	5	31,4±3,30*	16,7±1,50*
	10	25,0±2,40	21,5±2,40
ОСМА+Цитиколин	500	30,7±4,10*	17,7±0,80*

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы ложнооперированных животных (критерий Дана); ОСМА – окклюзия средней мозговой артерии.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что соединение VMA-10-18 у животных с фокальной ишемией оказывает наиболее выраженный нейропротективный эффект в дозе 5 мг/кг, и сопоставимый с таковым цитиколина, поэтому эта доза использовалась и при моделировании ХНМК, путем частичного стенозирования общих сонных артерий.

В отдельной серии экспериментов изучалось нейропротективное действие соединения у животных с 4-х недельным ХНМК. Хроническая недостаточность мозгового кровообращения (ХНМК) вызывает различной степени тяжести нарушения психоэмоционального состояния, сенсорно-моторной и когнитивных функций. Через 14 дней после моделирования патологии в течение 14 дней животным вводилось соединение VMA-10-18 в дозе 5 мг/кг и препарат сравнения глиатилин, после чего комплексно изучалось неврологическое состояние животных.

На 7 и 14 день введения исследуемых веществ у животных всех групп определялись выраженность психоневрологических нарушений в тестах ОП, ПКЛ, Ротарод, адгезивном тесте, УРПИ и ТЭИ.

В тесте ОП регистрировалась более высокая двигательная и ориентировочно-исследовательская активность, в тесте ПКЛ большее время пребывания в открытых рукавах, чем у животных группы контроль-ишемия (Таблица 11).

Таблица 11 – Влияние соединения VMA-10-18 на поведение животных с ХНМК в тесте ОП и ПКЛ

Показатели / группы		Время после начала введения веществ					
		на 7 день «лечения»			14 день «лечения»		
		в ОП		в ПКЛ	в ОП		в ПКЛ
		ДА	ОИА	Вор	ДА	ОИА	Вор
ЛО	-	25,5±3,80	11,3±1,30	50,1±13,30	26,4±3,80	11,6±1,80	59,7±12,40
Контроль-ишемия	-	14,0±1,80*	4,7±0,70*	9,5±4,20*	9,5±1,50*	3,3±0,60*	27,9±7,80*
VMA-10-18	5	21,0±2,50#	10,9±2,00#	42,4±8,90#	18,0±2,8#	7,9±1,50#	39,9±12,90
Глиатилин	100	21,4±2,90#	9,2±2,30	36,5±9,20	12,9±2,30	5,3±1,30	37,3±12,90

Примечание: * - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю ЛО группы; # - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы контроль-ишемия (критерий Дана); ДА – двигательная активность в тесте ОП; ОИА – ориентировочно-исследовательская активность в тесте ОП; Вор - время в открытых рукавах в тесте ПКЛ (с).

В тесте «Ротарод» животные с ХНМК, получавших исследуемое соединение, дольше удерживались на вращающемся стержне, а в адгезивном тесте быстрее обнаруживали и удаляли инородный предмет, чем животные группы контроль-ишемия (Таблица 12, Таблица 13).

Таблица 12 - Влияние соединения VMA-10-18 на время удержания на вращающемся стержне животных с ХНМК в тесте Ротарод

Показатели / группы	Время после начала «лечения»			
	на 7 день «лечения»		14 день «лечения»	
	ЛП, с.	Тобц, с.	ЛП, с.	Тобц, с.
ЛО	39,4±5,70*	107±13,70*	84,1±16,22*	147,4±15,20*
Контроль-ишемия	19,5±3,70	63,3±8,70	17,8±2,50	44,8±5,50
VMA-10-18	24,9±3,40	71,2±10,10	33,3±5,50*	83,8±11,20*
Глиатилин	42,5±8,20*	92,2±10,60*	40,3±8,80*	97,3±15,90*

Примечание: * - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы ложнооперированных животных (критерий Дана); ЛП – латентный период первого падения; Тобц. – суммарное время удержания на вращающемся стержне.

Таблица 13 – Влияние соединения VMA-10-18 на время обнаружения и удаления инородного тела в адгезивном тесте у животных с ХНМК

Показатели / группы	Показатели					
	ЛП1	ЛП2	T1	T2	% 1	% 2
ЛО	8,8±0,80	9,8±1,20	13,8±0,90	16,0±1,30	100	100
Контроль-ишемия	82,5±14,20*	122,4±14,20*	131,8±15,20*	149,1±13,90*	50	33
VMA-10-18	22,2±3,60#	16,0±2,00#	53,8±17,30#	38,8±10,50#	83	100
Глиатилин	22,5±5,80#	24,2±5,50#	57,5±15,00#	96,9±20,70#	100	67

Примечание: * - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю ЛО группы; # - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы контроль-ишемия (критерий Дана); ЛП1, ЛП2 – латентный период определения инородного тела на левой и правой лапе, соответственно (с); T1, T2 – суммарное время снятия инородного тела с левой и правой лапы, соответственно; % 1, %2- количество животных (в %) снявших инородное тело с левой и правой лапы.

Эти данные свидетельствуют о том, что у животных с ХНМК, получавших в течение 14 дней соединение VMA-10-18 и глиатилин, статистически значимо меньше выражена тревожная симптоматика, нарушения мелкой моторики, силы и координации движений, чем у животных группы контроль-ишемия.

НМК в большей или меньшей степени, но всегда сопряжены со снижением когнитивной функции. При оценке когнитивной функции у животных с ХНМК, получавших в течение 14 дней соединение VMA-10-18, в тесте УРПИ регистрировалось меньше заходов в темный отсек, при этом время латентного периода захода в него было значительно больше, чем у животных группы негативного контроля (Таблица 14).

Таблица 14 - Влияние соединения VMA-10-18 на поведение животных с ХНМК в тесте УРПИ

Показатели / группы	Время после начала введения веществ			
	на 7 день «лечения»		14 день «лечения»	
	ЛП, с	% не зашедших	ЛП, с	% не зашедших
ЛО	180,0±0,00	100	180,0±0,00	100
Контроль-ишемия	122,5±20,60*	58	95,7±22,60*	42
ОСМА+VMA-10-18	173,3±4,50#	83	153,3±17,90#	83
ОСМА+Глиатилин	165,8±14,20#	92	154,9±16,30	75

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю ЛО группы; # - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы контроль-ишемия (критерий Дана); ЛП – латентный период захода животного в темный отсек в тесте УРПИ (с), $n = 12$.

В тесте ТЭИ животные быстрее решали задачу экстраполяционного избавления, что также свидетельствует о сохранении памятного следа у животных с ХНМК, получавших соединение VMA-10-18.

Таблица 15 – Влияние соединения VMA-10-18 на латентный период подныривания в ТЭИ животных с ХНМК

Показатели / группы	Время после начала введения веществ	
	ЛП подныривания, с	
	на 7 день «лечения»	14 день «лечения»
ЛО	6,3±1,00	4,6±0,50
Контроль-ишемия	20,0±3,10*	14,1±0,90*
ОСМА+ VMA-10-18	9,7±2,30#	5,2±0,80#
ОСМА+ Глиатилин	9,6±1,30#	4,5±0,60#

Примечание: *- $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю ЛО группы; # - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы контроль-ишемия (критерий Дана); ЛП – латентный период подныривания.

При оценке формирования референтной и пространственной памяти в тесте Барнс животные, получавшие соединение VMA-10-18, на этапе обучения и воспроизведения совершали меньше ошибок по сравнению с группой животных контроль-ишемия (Рисунок 2).

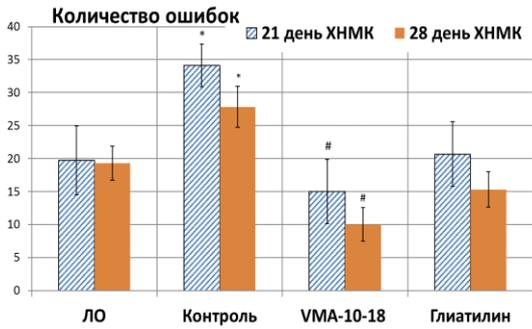


Рисунок 2. Количество ошибок, совершенных животными с ХНМК в тесте Барнс (через 21 и 28 дней после моделирования ХНМК), получавших с 15 по 28 день соединение VMA-10-18 и референтный препарат глиатилин

Примечание: * - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю ЛО группы; # - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы контроль-ишемия (критерий Дана).

Таким образом, у животных, получавших соединение VMA-10-18, показатели когнитивной функции были статистически значимо выше, чем у животных группы контроль-ишемия.

Предполагая, что в ряду возможных механизмов нейропротективного действия соединения VMA-10-18 определенную роль может играть его действие на МК, эндотелиальную функцию, утилизацию глюкозы мозгом после 14-ти дневного введения и после тестирования психоэмоционального состояния, сенсомоторных и когнитивных функций регистрировался мозговой кровоток, вазодилатирующая функция эндотелия и утилизации глюкозы мозгом.

Установлено, что МК в проекции средней мозговой артерии после 14-ти дневного введения соединения VMA-10-18 был на 24% выше, реакция на введение ацетилхолина (АЦХ) на 157%, на нитро-L-аргинин на 71% больше, чем у животных группы контроль-ишемия, а утилизация глюкозы мозгом больше (Рисунок 3Г).

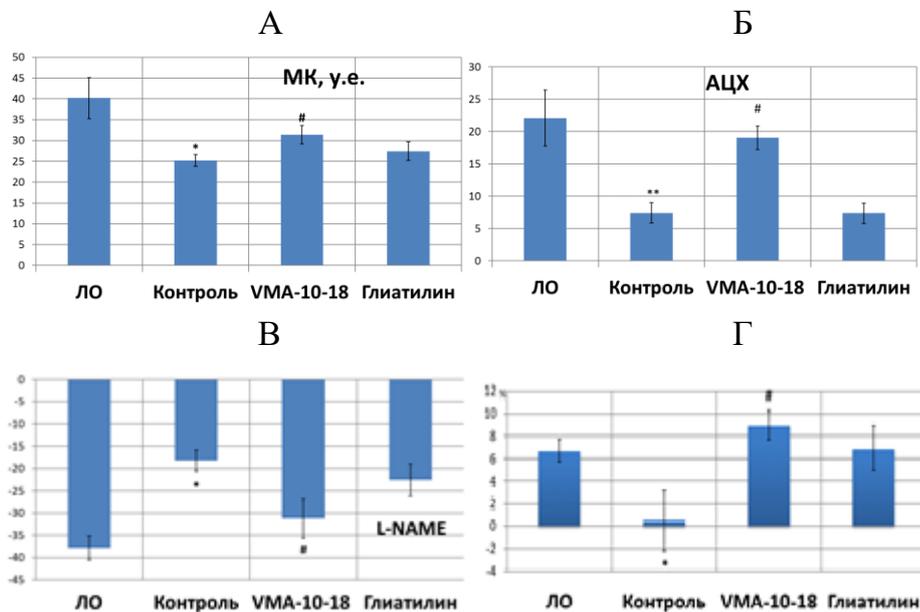


Рисунок 3. Уровень мозгового кровотока в проекции средней мозговой артерий (А), его изменение при введении ацетилхолина (Б) и нитро-L-аргинина (В) и утилизацией глюкозы мозгом (Г) у животных с ХНМК

Примечание: * - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю ЛО группы; # - $p < 0,05$ – различия статистически значимы по отношению к показателю группы контроль-ишемия (критерий Дана).

На основании проведенного исследования установлено, что соединение VMA-10-18 в дозе 5 мг/кг при курсовом введении способно улучшать мозговое кровообращение, снижая выраженность эндотелиальной дисфункции и улучшая утилизацию глюкозы, что может обуславливать снижение выраженности когнитивного нарушения.

В **шестой главе** отражены результаты нейрофармакологического анализа взаимодействия с нейротрансмиттерными системами ЦНС. Проведенный нейрофармакологический анализ показал, что соединение VMA-10-18 проявляет мультитаргетное действие.

Таблица 16 – Нейрофармакологический анализ взаимодействия соединения VMA-10-18 с нейромедиаторными системами ЦНС

Нейромедиаторная система	Фармакологические зонды	Влияние на нейромедиаторную систему
Дофаминергическая	Апоморфин	Активация
M-холинергическая	Ареколин	Стимуляция
H-холинергическая	Никотин	Слабо выраженное
Серотонинергическая	5-окситриптофан	Слабо выраженная
ГАМК-ергическая	Коразол	Стимуляция
	Пикротоксин	
	Бикукуллин	

Широкий спектр психотропного действия возможно обусловлен неоднородным влиянием исследуемого соединения на различные нейротрансмиттерные системы мозга. На основании проведенных исследований, установлено, что производное хиназолина VMA-10-18 стимулирует ГАМК-ергическую нейротрансмиссию, что, в определенной мере, может указывать на наличие у него выраженных анксиолитических, ноотропных и нейропротекторных свойств. Соединение также оказывает стимулирующее влияние на дофаминергическую нейротрансмиссию, что объясняет его активирующее и антидепрессивное действие. Усиление тремора при введении ареколина свидетельствует об активации холинергической системы, что может лежать в основе улучшения когнитивных функций.

В заключении приводится обобщение полученных результатов. На основании проведенных исследований среди ряда производных хиназолин-4(3H)-она было выявлено несколько соединений VMA-10-03 и VMA-10-05, VMA-10-18, VMA-10-17 и VMA-10-21, оказывающих психотропное действие. При углубленном изучении было выделено соединение VMA-10-18 оказывающее в дозе 5 мг/кг выраженное нейропротективное действие при острых и хроническом НМК, а также анксиолитическое и, в меньшей мере, антидепрессивное действие. Данное вещество также улучшает вазодилатирующие свойства эндотелия, повышает мозговой кровоток, улучшает утилизацию глюкозы мозгом и оказывает антигипоксическое действие.

ВЫВОДЫ

1. Скрининговое исследование нейропсихотропной активности среди простых эфиров производных хиназолин-4(3*H*)-она (4 соединения), амидных производных (8 соединений) и сложнзамещенных амидных производных хиназолин-4(3*H*)-она (5 соединений) позволило выявить ряд веществ с выраженной анксиолитической (VMA-10-05, VMA-10-18, VMA-10-20, VMA-10-21) и умеренной антидепрессантной (VMA-10-05, VMA-10-18 и VMA-10-21), ноотропной (VMA-10-03, VMA-10-05, VMA-10-18, VMA-10-17 и VMA-10-21) и антигипоксической активностью (VMA-10-11, VMA-10-13, VMA-10-14, VMA-10-16, VMA-10-17 и VMA-10-18).

2. Среди наиболее активных производных хиназолина при углубленном изучении выявлено соединение 3-[2-оксо-2-[(4-метоксифенил)амино]этил]хиназолин-4(3*H*)-он с лабораторным шифром VMA-10-18, которое оказывало поливалентное психоневрологическое действие: анксиолитическое, антидепрессивное, ноотропное, антигипоксическое, противосудорожное и нейропротективное.

3. Соединение VMA-10-18 при внутрижелудочном введении мышам и крысам в дозах 3; 4 и 5 г/кг не вызывает гибели животных при 14 дневном наблюдении, поэтому его можно отнести к классу малотоксичных соединений.

4. При изучении антигипоксической активности установлено, что соединение VMA-10-18 повышало продолжительность жизни при нормобарической (на 59,5%), гемической (на 78,7%) и тканевой (на 114,4%) гипоксии. При ишемии головного мозга, вызванной двусторонней перевязкой общих сонных артерий исследуемое соединение в наиболее активной дозе 5 мг/кг вдвое повышало выживаемость животных и значительно уменьшало неврологический дефицит по сравнению с группой контроль-ишемия.

5. Соединение VMA-10-18 у животных с фокальной ишемией головного мозга в дозах 2,5; 5 и 10 мг/кг уменьшало зону некроза соответственно на 28,5%; 36,5% и 18,3%, и сопоставимо с препаратом сравнения цитиколином (-32,7%), а мозговой кровоток в проекции средней мозговой артерии был, соответственно, на 20,7%; 41,3% и 26,0% выше, в сравнении с группой негативного контроля.

6. У животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения, получавших соединение VMA-10-18, в сравнении с животными контрольной группы были выше: мозговой кровоток, потребление глюкозы мозгом, эндотелий зависимая вазодилатация, сенсомоторная, когнитивная функции.

7. Нейропротективные эффекты у животных с острым и хроническим нарушением мозгового кровообращения, получавших соединение VMA-10-18, обусловлены его антигипоксическим действием, повышением стимулируемой и базальной продукции оксида азота, улучшением вазодилатирующей функции, уменьшением агрегации тромбоцитов, перекисного окисления липидов и повышением активности ферментов антиоксидантной защиты³. Ноотропные свойства соединения

³ Данные получены в рамках исполнения Государственного контракта № 14.N08.12.0142 от «02» июня 2017 г. «Доклинические исследования лекарственного средства для лечения нарушений мозгового кровообращения на основе производного хиназолина» с Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

VMA-10-18 обусловлены активацией ГАМК-ергической и М-холинергической системами, анксиолитические и антидепрессивные – активацией дофаминергической системы.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Нейропротективное действие 3-[2-оксо-2-[(4-метоксифенил)амино]этил]хиназолин-4(3H)-он с лабораторным шифром VMA-10-18, выявленное при моделировании нарушений мозгового кровообращения, низкая токсичность свидетельствуют и о высоком терапевтическом потенциале с полимодальным, политаргетным действием при лечении и профилактики острых и хронических нарушений мозгового кровообращения и коррекции с ними связанных психоневрологических патологий.

2. Целесообразно продолжить дальнейший синтез новых производных хиназолин-4(3H)-она с различными заместителями и изучение их нейропсихотропных и нейропротективных свойств.

3. Является целесообразным включение полученных в данной работе результатов в учебные пособия по фармацевтической органической и медицинской химии в раздел «новые перспективные средства для лечения нарушений мозгового кровообращения и сопутствующих им психоэмоциональных и когнитивных нарушений».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ

1. Алкилирование хиназолин-4(3H)-она замещенными анилидами альфа-галогенкарбоновых кислот / А.А. Озеров, Е.Н. Шматова, **Ю.В. Арчакова** // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №6. – С. 3.

2. Алкилирование хиназолин-4(3H)-она замещенными анилидами альфа-галогенкарбоновых кислот / Т.П. Озерова, Е.А. Солодунова, **Ю.В. Арчакова**, Е.Г. Глухова, А.А. Озеров // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №6.–С. 4.

3. Аномалия в ряду фармакологических свойств производных хиназолин-4(3H)-она, имеющих фрагменты ацетанилида в качестве заместителей / И.Н. Тюренков, А.А. Озеров, Е.А. Солодунова, **Ю.В. Арчакова**, Е.Г. Глухова, Е.Н. Шматова // Вестник ВолгГМУ. – 2012. – №2(42). – С. 66-68.

4. Влияние производных хиназолина на мозговой кровоток крыс с необратимой двусторонней перевязкой общих сонных артерий / Д.А. Бакулин, А.А. Озеров, И.Н. Тюренков, Е.В. Волотова, Д.В. Куркин, **Ю.В. Арчакова**, Е.Н. Шматова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2013. – Т.11. – № 5 – С. 21.

5. Синтез и анксиоседативные, антидепрессивные свойства анилидов α -[4-оксохиназолин-3(4H)-ил]карбоновых кислот / И.Н. Тюренков, А.А. Озеров, Е.А. Солодунова, **Ю.В. Арчакова**, Е.Н. Шматова, К.Т. Самлиева // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. Т.47. – №5. – С. 7-10.

6. Ноотропная активность амидов хиназолинового ряда / И.Н. Тюренков, А.А. Озеров, Е.Н. Шматова, **Ю.В. Арчакова** // Химико-фармацевтический журнал. – 2015. – Т.49. – №2. – С. 18-20.

7. Синтез и психотропная активность нового производного аденина, содержащего фрагмент 4-диметиламиноацетанилида в качестве заместителя / Г.Н. Солодунова, М.Ф. Маршалкин, **Ю.В. Арчакова** // Фундаментальные исследования. –2015.–№2.– С. 523-526.

8. Спектр психофармакологических свойств новых производных [4-оксохиназолин-3(4h)-ил]уксусной кислоты / **Ю.В. Арчакова**, Е.Г. Глухова, Е.Н. Шматова, Е.А. Солодунова, И.Н. Тюренков, М.С. Новиков, А.А. Озеров // Успехи современного естествознания. – 2016. – № 3. – С. 9-12.

Работы, опубликованные в других изданиях

1. Изучение сохранения памятного следа и когнитивных функций нового соединения VMA-10-04 / **Ю.В. Арчакова** // Проблемы медицины и биологии. - 2011. – С. 30-31.

2. Изучение анксиолитической активности новых производных хиназолина / **Ю.В. Арчакова** // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: Материалы 69-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием. – 2011. – С. 192.

3. Изучение ноотропной активности новых производных хиназолина / **Ю.В. Арчакова** // Вестник ВолгГМУ: приложение (Материалы III Всероссийского научно-практического семинара для молодых ученых «Методологические аспекты экспериментальной и клинической фармакологии»). – 2011. – С. 21-22.

4. Изучение эндотелиопротективной активности ишемического прекодиционирования при острой ишемии головного мозга у крыс / Е.В. Волотова, Д.В. Куркин, А.А. Литвинов, **Ю.В. Арчакова**, А.А. Бутиков // Вестник ВолгГМУ: приложение (Материалы III Всероссийского научно-практического семинара для молодых ученых «Методологические аспекты экспериментальной и клинической фармакологии»). – 2011. – С. 94-95.

5. Изучение ноотропной активности новых производных хиназолина / **Ю.В. Арчакова** // III Всероссийский научно-практический семинар для молодых ученых «Достижения молекулярной медицины как основа разработки инновационных лекарственных средств». – 2011. – С. 54.

6. Сравнительное изучение противогипоксической активности производных хиназолина / **Ю.В. Арчакова** // Научно-практическая конференция «Аспиранские и докторантские чтения: дерзания нового времени – поиск инноваций». Сборник материалов конференции. – 2012 – С. 14-15.

7. Синтез и психофармакологический скрининг новых производных [4-оксохиназолин-3(4h)-ил]-ацетанилида / Е.Н. Шматова, **Ю.В. Арчакова** // 70-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальнее проблемы экспериментальной и клинической медицины». – 2012. – №4. – С. 524-525.

8. Синтез и психотропные свойства новых амидов хиназолинового ряда / **Ю.В. Арчакова**, Е.А. Солодунова, Е.Н. Шматова, А.А. Озеров // Материалы съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии». – 2012. – С. 14.

9. Дизайн, синтез и ноотропная активность новых производных 2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]-N-фенилацетамида / Е.Н. Шматова, **Ю.В. Арчакова** // Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием

«Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств». – 2012. – С. 88-90.

10. Экспериментальное изучение влияния новых производных хиназолина на выраженность хемоиндуцированной скополаминовой амнезии у крыс / **Ю.В. Арчакова**, Е.Н. Шматова // *Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств».* – 2012. С. 96-97.

11. Изучение антидепрессантной активности новых производных хиназолина / **Ю.В. Арчакова**, Е.Н. Шматова, Д.А. Бакулин // *71-ая открытая научно-практическая конференция молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины».* – 2013. – С. 238-239.

12. Влияние производных хиназолина на выживаемость животных при необратимой двусторонней перевязке общих сонных артерий / Д.А. Бакулин, Е.В. Волотова, Д.В. Куркин, **Ю.В. Арчакова**, Е.Н. Шматова // *71-ая открытая научно-практическая конференция молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины».* – 2013. – С. 239-240.

13. Экспериментальное определение эффективной дозы новых производных хиназолин-3(4*H*)-она в тесте нормобарической гипоксии с гиперкапнией / **Ю.В. Арчакова**, Е.Н. Шматова // *V Всероссийский научно-практический семинар для молодых ученых с международным участием «Геномные и протеомные технологии при создании новых лекарственных средств».* – 2013. – С. 7-8.

14. Синтез и фармакологическая активность новых амидов α -[4-оксохиназолин-3(4*H*)-ил]карбоновых кислот / Е.Н. Шматова, **Ю.В. Арчакова**, И.Н. Тюренков, А.А. Озеров // В сборнике: Сборник трудов научно-практической конференции профессорско-преподавательского коллектива, посвященной 80-летию Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – С. 51-54.

15. Антидепрессантные свойства производных α -[4-оксохиназолин-3(4*H*)-ил]карбоновых кислот / **Ю.В. Горбунова** // *V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств».* – 2018. – С. 59.

16. Синтез и нейро-психотропные свойства производных хиназолин-4(3*H*)-она / А.А. Озеров, **Ю.В. Горбунова**, В.А. Марусевич // *V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств».* – 2018. – С. 182.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения	ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт
ЗИ – зона инфаркта	СМА – средне мозговая артерия
ЛО – ложнопериоперированные животные	СО – степень отека
ЛП – латентный период	Тобщ – общее время
МК – мозговой кровоток	ТЭИ – тест экстраполяционного избавления
НМК – нарушения мозгового кровообращения	УРПИ – условная реакция пассивного избегания
ОИА – ориентировочно-исследовательская активность	физ.р-р – физиологический раствор
ОП – открытое поле	ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения
ОСА – общие сонные артерии	ЦНС – центральная нервная система
ОСМА – окклюзия средней мозговой артерии	

Горбунова Юлия Васильевна

**ПСИХОТРОПНАЯ И
НЕЙРОПРОТЕКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ
НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНАЗОЛИНА**

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук