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

На правах рукописи

Мирошников Михаил Владимирович

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

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ,

доктор медицинских наук, профессор

Спасов Александр Алексеевич

Волгоград, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования.

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

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

Была изучена нейропсихотропная активность синтезированных соединений – производных диазепинобензимидазола, химическая структура которых включает две привилегированные структуры. Производные диазепина (диазепам) обладают выраженным противотревожным эффектом, описанным в большом количестве научной литературы (Faye C., Hen R., Guiard B.P., 2019; Dhole M., Bhalerao S., Kewlani A., 2019, Ait-Daoud N. et al., 2018). Производные бензимидазола (фабомотизол) также обладают выраженными транквилизирующими свойствами (Kalinina T. S. et al., 2016; Воронина Т. А., Середенин С.Б., 2002).

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

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

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

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

Производные диазепина также являются соединениями, проявляющими различные фармакологические свойства – анальгетические (Sathishkumar S., Kavitha H.P., 2019), антитромботические (Спасов А. А. и др., 2016), анксиолитические (Rashid M. A. et al., 2019), снотворные (Manouchehri N., Abbasi-Maleki S., Mousavi Z., 2019), противовирусные (Bacon E. et al., 2019), противоопухолевые (Gour J. et al., 2019), противосудорожные (Shafie A. et al., 2019) и противовоспалительные (Sathishkumar S., Kavitha H.P., 2017).

Концепция объединения привилегированных структур на сегодняшний день является стремительно развивающимся направлением в синтезе новых лекарственных препаратов, а фармакологические свойства производных диазепинобензимидазола представляют большой интерес и активно изучаются в данное время.

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

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

Задачи исследования.

1. Провести направленный поиск соединений с анксиолитической активностью среди производных 2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]бензимидазола в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

2. Выполнить углубленное изучение анксиолитической активности наиболее активного соединения с использованием моделей ситуативной тревожности - «Темная-светлая камера», «Оценка тревожно-фобического состояния животных», «Открытое поле», а также конфликта мотиваций - «Наказуемое взятие воды по Vogel».

3. Изучить степень выраженности и продолжительность анксиолитического действия наиболее активного производного диазепинобензимидазола.

4. Провести оценку спектра нейропсихотропных свойств соединения лидера: влияние на депрессивноподобное поведение, болевую чувствительность, мышечный тонус и т.п.

5. Изучить механизм действия наиболее активного соединения с использованием методов нейрофармакологического анализа in vivo путем определения влияния на эффекты агонистов и антагонистов основных нейромедиаторных систем.

6. Определить острую токсичность и нейротоксические свойства наиболее активного производного диазепинобензимидазола посредством теста «S.Irwin», а также оценить его побочные эффекты.

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

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

При рассмотрении химической структуры соединения ДАБ-21, являющегося производным 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола, показавшего выраженную анксиолитическую активность и содержащего в положении N^{11} 2-пирролидиноэтильный радикал, можно сделать предположение о том, что присутствие в этом радикале, у атома азота насыщенного гетероцикла является отрицательным фактором для развития анксиолитического эффекта лишь тогда, когда этот цикл имеет сильно неплоскую геометрию, что характерно именно для шестичленных циклов (ДАБ-34), но не для пятичленного пирролидина (ДАБ-21). Возможно именно из-за этого фактора данное соединение проявляет наибольшую анксиолитическую активность, превосходящую показатели препарата сравнения.

Теоретическая и практическая значимость работы. Выявленные в ходе исследования закономерности между анксиолитической активностью производных 11-замещенных-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино-[1,2-α]-бензимидазола и их структурой, а также физико-химическими свойствами расширили знания о данном классе соединений и могут служить основой для направленного поиска новых соединений с нейропсихотропными свойствами. Получены данные о наличии некоторых нейропсихотропных свойств у соединения ДАБ-21, а именно эффекты, связанные с возможностью снижать тревогу, депрессивное и обсессивно-компульсивное состояние, снижать болевые ощущения, изучена острая токсичность, а также получены данные об отсутствии нежелательных реакций, присущих производным диазепина. Установлено, что изучаемое вещество обладает полимодальным механизмом действия.

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

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Производные скаффолда 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола - перспективный класс соединений для поиска и изучения новых выссокоэффективных анксиолитических средств.

2. Соединение ДАБ-21 11-[4-трет-бутилбензил]-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]диазепино[1,2-а]бензимидазола гидробромид проявляет высокую анксиолитическую активность, превосходящую эффект диазепама, имеет оригинальный спектр действия, включающий также антидепрессивную, противосудорожную, анальгетическую активности *in vivo*, при этом является малотоксичным и не проявляет бензодиазепиноподобных побочных эффектов таких как седация и миорелаксация, что в совокупности указывает на его потенциально высокую лекарственную безопасность. Наличие высокой активности и безопасности обосновывает перспективность разработки на основе соединения ДАБ-21 нового оригинального отечественного анксиолитического средства.

3. Флумазенил блокирует анксиолитическую активность соединения ДАБ-21.

Внедрение результатов исследования. Выявленные закономерности между структурной и физико-химической характеристикой изученного ряда производных диазепинобензимидазола с их анксиолитической и нейропсихотропной активностью внедрены в работу по оптимизации синтеза соединений с целью получения более эффективных соединений с низким риском развития побочных эффектов, которая проводится на базе НИИ физической и органической химии Южного Федерального университета. Разработанная методология целенаправленного поиска новых нейропсихотропных соединений применяется в работе лаборатории экспериментальной фармакологии ГБОУ ВМНЦ, кафедры фармакологи и биоинформатики ВолгГМУ. Результаты работы внедрены в лекционные курсы на кафедрах фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ; фармакологии и фармации Института НМФО; фармацевтической и токсикологической химии ВолгГМУ.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом и качеством выполненных исследований, проведенных на мышах и крысах-самцах; использованием современных методов и методических подходов, высокотехнологического оборудования в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с нейропсихотропной активностью, а также критериев статистической обработки данных. Основные результаты диссертационной работы были представлены на научно-практических конференциях: 76, 77 - открытые научно-практические конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2018-2019 гг.), XXIII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области (Волгоград, 2018 г.), XXIV Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области (Волгоград, 2019 г.), Семинаре Европейской Коллегии Нейропсихофармакологии ECNP (Санкт-Петербург, 2018 г.), Конференции «Мечниковские чтения-2018» (Санкт-Петербург, 2018 г.). XII Международной научно-практической конференции молодых ученных и студентов «Молодежь – практическому здравоохранению» (Тверь, 2018 г.), Международной конференции «Психофизиология и психонейроэндокринология» (Ставрополь, 2018 г.), V съезде фармакологов России (Ярославль, 2018 г.), «Фестивале молодежной науки – 2018» - (Красноярск, 2018 г.).

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

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

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

ГЛАВА 1. ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ

В данной главе представлен современный взгляд на проблему патологической тревожности. Рассмотрены основные механизмы и системы, лежащие в основе развития данных расстройств. Дана оценка эффективности существующих препаратов, направленных на терапию и коррекцию тревожно-фобических заболеваний. Приведен обзор новых наиболее перспективных соединений с нейропсихотропной активностью, опубликованных в общемировой литературе за последние годы, находящихся на доклинической и клинических стадиях изучения.

1.1 Социальные аспекты патологической тревожности

По данным Всемирной Организации Здравоохранения во всем мире зарегистрировано более 260 миллионов человек с различными тревожно-фобическими патологиями. Недавнее исследование, проведенное под руководством ВОЗ, показывает, что тревожные и депрессивные расстройства обходятся мировой экономике в 1 триллион долларов США каждый год по потере производительности (Bandelow B. et al., 2017). В России до 10% населения имеют признаки какого-либо нарушения психической деятельности (Александровский Ю. А., 2014; Решетников М. М., 2015). Наиболее часто в клинической практике встречаются: генерализованное тревожное расстройство (ГТР), посттравматическое стрессовое расстройство, паническое расстройство, обсессивно-компульсивное расстройство, социальные фобии и тревожно-депрессивное расстройство (Хаустова Е. А., Безшейко В.Г. 2012, Вознесенская Т. Г., 2013). Тревожные расстройства могут быть концептуализированы как патологический аналог физиологического чувства страха. Часто эти психологические симптомы сопровождаются спектром вегетативных (сердечно-сосудистых, желудочно-кишечных и др.) симптомов, а также активацией гипоталамо–гипофизарно–надпочечниковой (HPA) оси, которая является главной гормональной осью опосредованной реакции на стресс (Ströhle A., Gensichen J., Domschke K., 2018; Rutter L. A. et al., 2019;). Проблема терапевтической коррекции данных патологий на сегодняшний день является весьма актуальной и требует решения. Большое количество препаратов с нейропсихотропной активностью, используемых в клинической практике не всегда могут справиться с поставленными задачами. Классические транквилизирующие препараты, к числу которых относятся: феназепам, диазепам, алпразолам и др., характеризуются высоким анксиолитическим потенциалом и быстротой реализации противотревожного эффекта при широком терапевтическом индексе (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014), но данные препараты не лишены побочных эффектов, самыми опасными из которых являются психическая и физическая зависимость, седация. Вследствие этого данные препараты невозможно применять пациентам, чья трудовая деятельность связана с повышенным вниманием (водители, диспетчеры и т.п.) (Cheng T. et al., 2018). «Новые анксиолитики», по классификации С.Б. Середенина и Т.А. Ворониной (Воронина Т. А., Середенин С.Б., 2002) к которым относятся: частичные агонисты бензодиазепинового рецептора (абекарнил), эндогенные модуляторы ГАМК$_A$-бензодиазепинового рецепторного комплекса (эндозепины), агонисты ГАМК$_B$-рецепторного комплекса (фенибут), мембранные модуляторы ГАМК$_A$-бензодиазепинового рецепторного комплекса (афобазол), глутаматергические (кетамин) и серотонинергические анксиолитики (буспирон) в большинстве случаев обладают менее выраженными побочными действиями, но и менее активны при терапии тревожных расстройств, в сравнении с производными бензодиазепина (Полковникова Ю. А., Степанова Э.Ф. 2011). Так же, для лечения стресса назначаются и антидепрессанты, преимущественно селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (флуоксетин), но они так же не лишены побочных действий – склонность к суициду в начале терапии, репродуктивная токсичность, атипичные реакции, длительное развитие основного эффекта, либо его нивелирование (Gautam S. et al., 2017).

Значительное обилие препаратов и механизмов их основного действия при лечении тревожных расстройств обусловлено биохимической сложностью и этиологической индивидуальностью патологического процесса (Murrough J. W. et al., 2015). Тревожные заболевания следует отличать от непсихических нарушений функций организма, в виду частой нехарактерной или многовариантной картины анамнеза одного и того же тревожного расстройства (Nuss P., 2015; Andrews G. et al., 2018). Причины симптоматического разнообразия к тому же могут заключаться в нарушениях механизмов действия нескольких систем организма (ГАМК-ергическая, серотонинергическая, глутаматная, эндоканнабиноидная и др.) (Воронина Т. А., 2008), либо нарушениях взаимодействия между ними (Letizia Trincavelli M. et al., 2012) Ввиду этого наиболее эффективными считаются полимодальные соединения с сочетанием анксиолитической и антидепрессивной активности (Nuss P., 2015; Andrews G. et al., 2018). Данное понимание о терапии тревожных состояний анксиолитическими и антидепрессивными средствами, заставляет прибегнуть к поиску фармакологически наиболее выгодных и оптимальных соединений, обладающих перспективными транквилизирующими характеристиками (скорость достижения эффекта, продолжительность и сила эффекта и.д.), выраженными нейропсихотропными свойствами (анксиолитическая, антидепрессивная, антикомпульсивная и др. активности) и минимумом побочных действий (зависимость, а также в данном случае – седация и миорелаксация).

1.2. Современные представления о механизмах развития тревожности

Был проведен анализ современных концепций по изучению патологической тревожности. Рассмотрены наиболее важные и изученные механизмы, лежащие в основе проявления патологического состояния стресса. Большая часть представленной информации была опубликована в научной литературе за последние три года.

1.2.1. ГАМК-рецепторы

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК, γ-аминомасляная кислота) относится к монокарбоновым аминокислотам; является основным тормозным медиатором в ЦНС. Синтезируется в ЦНС из глутаминовой кислоты посредством глутамат-декарбоксилазы. ГАМКергические нейроны располагаются в гиппокампе, таламусе, базальных ганглиях, гипоталамусе и стволе головного мозга. Баланс между ингибиторной нейрональной передачей через ГАМК и возбуждающей нейрональной передачей через глутамат необходим для стабилизации клеточной мембраны и правильной функциональной активности нервной системы (Ngo D. H., Vo T.S. 2019). ГАМК действует на две основные группы молекулярных рецепторов – ионотропные рецепторы типа $ГАМК_A$/$ГАМК_C$ и метаботропные рецепторы типа $ГАМК_B$, которые считаются главными ингибиторными рецепторами центральной нервной системы (Тюренков И. Н., Перфилова В.Н. 2010).

1.2.1.1. $ГАМК_A$-рецепторы

$ГАМК_A$-рецепторы у млекопитающих состоят как минимум из 16 субъединиц, которые сгруппированы в семь классов: α, β, γ, δ, ε, π и σ. Комбинации этих субъединиц обусловливают существование множества изоформ рецепторов, причем композиция субъединиц определяет специфичность эффектов аллостерических модуляторов $ГАМК_A$-рецепторов (таких, как нейростероиды, цинк, бензодиазепины и барбитураты) (Семьянов А. В., 2002, Chuang S. H., Reddy D.S. 2018). Композиция субъединиц также определяет кинетику активации рецепторов и может оказывать влияние на их десенсибилизацию. Считается, что типичные гиппокампальные ГАМК-рецепторы содержат одну-две α-субъединицы и одну-две β-субъединицы. Поскольку рецептор состоит из пяти субъединиц, то в дополнение к упомянутым выше присоединяются одна-две либо γ-, либо δ-субъединицы (Zhu S. et al., 2018). Канал $ГАМК_A$- рецептора проницаем для ионов хлора и в некоторой степени для бикарбоната (регуляция pH) (Çiçek S. S., 2018, Tillman L., Zhang J. 2019). На $ГАМК_A$ –рецепторе существуют целый ряд модуляторных сайтов, отличных от сайта связывания агониста. Одним из таких аллостерических модуляторов является бензодиазепиновый сайт (Kalinichev M. et al., 2017), он представляет собой мишень для ряда препаратов – антиконвульсантов, анксиолитических, седативных и снотворных средств. Другим сайтом аллостерической модуляции ГАМК-а-рецепторов является сайт барбитуратов.

Было установлено, что нарушение правильго функционирования $ГАМК_A$-рецепторного комплекса может приводить к широкому спектру психических заболеваний: тревожно-депрессивных состояний, шизофрении, болезни Альцгеймера и др (Тюренков И.Н., Перфилова В.Н. 2011).

1.2.1.2. ГАМК$_B$- рецепторы

Метаботропные ГАМК$_B$-рецепторы представляют собой гетеродимеры (Kalinichev M., 2017), которые состоят из двух субъединиц: GBR1 и GBR2. Установлено, что ГАМК$_B$-рецепторы могут локализоваться как пре-, так и постсинаптически. Постсинаптическим эффектом активации данных рецепторов является длительная гиперполяризация, следующая за “быстрым” ионотропным компонентом ГАМК-эргической передачи. Пресинаптический эффект активации ГАМК$_B$- рецепторов заключается в том, что они снижают как высвобождение ГАМК в тормозных синапсах, так и высвобождение глутамата – в возбуждающих. ГАМК$_B$-рецепторы связаны с тримерным G-белком. Одним из эффектов их активации является ингибирование аденилатциклазы. Кроме того, данные рецепторы прямо связаны через посредство G-белка с потенциалзависимыми кальциевыми каналами N- и P/Q-типов, которые вовлечены в процесс синаптического высвобождения нейропередатчиков (Семьянов А. В., 2002).

Было установлено, что нарушение нормального функционирования ГАМК$_B$-рецепторного комплекса может приводить к широкому спектру психических заболеваний: тревожно-депрессивных состояний, болезни Альцгеймера, аффективных расстройств и др (Тюренков И.Н., Перфилова В.Н. 2011).

1.2.1.3. ГАМК$_C$- рецепторы

Ионотропный рецептор, этот тип объединяет гомомерные рецепторы, состоящие только из ρ-субъединиц, которые в свою очередь делятся на три подкласса: ρ1, ρ2 и ρ3 (Luo H. et al. 2018). Данные субъединицы в наибольшем количестве сосредоточены в сетчатке позвоночных, хотя обнаружены и в структурах ЦНС (в частности, в гиппокампе). ГАМК$_C$- рецепторы имеют отличный от ГАМК$_A$-рецепторов фармакологический профиль. Они нечувствительны к бикукуллину, аллостерическим модуляторам и специфическим агонистам ГАМК$_A$-рецепторов (Семьянов А. В., 2002, Тюренков И.Н., Перфилова В.Н. 2011).

Отличие между ГАМК$_A$ и ГАМК$_C$ рецепторами также заключается в том, что ГАМК$_A$-рецептор способен к быстрой активации и быстрой десенситизации, ГАМК$_C$-рецептор активируется медленно и значительно менее склонен к десенцитизации (Cunha C., Monfils M. H., LeDoux J., 2010; Solomon V. R., Tallapragada V. J., Chebib M., 2019).

1.2.2. Катехоламинергическая и серотонинергическая системы

В данном разделе рассматривается современное понимание влияния дофаминергической и серотонинергической систем на развитие патологической тревожности. Это направление является одним из наиболее перспективных и превалирующих среди остальных в терапии стрессового расстройства, так как на сегодняшний день накоплено большое количество литературных и экспериментальных данных (Rice O. V. et al., 2018; Belmer A. et al., 2019; Malikowska-Racia N., Popik P., Sałat K., 2019) о влиянии рассматриваемых систем на развитие патологической тревожности.

1.2.2.1 Дофаминовые рецепторы

Дофаминовые рецепторы относятся к родопсиноподобным, аминергическим G-белковым рецепторам (GPCRs), существует пять подтипов дофаминовых рецепторов, которые можно разделить на две группы D_1-подобной (D_1 и D_5) и D_2-подобные (D_2, D_3 и D_4) в зависимости от активации или ингибирования вторичного мессенджера, циклического аденозина монофосфата (цАМФ) (Rice O. V. et al., 2018; Song D. et al., 2018; Tu G. et al., 2019). Дофаминовая система является одним из ключевых нервных субстратов для системы вознаграждения и эмоциональных реакций. Хотя дофаминовые нейроны хорошо известны своим участием в реализации реакций вознаграждения, сейчас известно, что активность дофаминовых нейронов также связана с неприятными, стрессовыми стимулами. Активность дофаминовых нейронов модулируется не только синаптически, но и периферическими гормонами. В норме центральные и периферические сигналы действуют согласованно, чтобы определить реакцию нейрона как на полезные, так и на неприятные/стрессовые стимулы. Дисфункция этой системы связана с рядом психических расстройств, включая тревогу и депрессию (Sun F. et al., 2019).

1.2.2.2. Серотониновые рецепторы

5-НТ-рецепторы - мембранные рецепторы нейромедиатора и гормона серотонина (Черников М. В., Васильев П.М. 2006; Яковлев Д.С., 2016;) активация данных типов рецепторов влияет также на работу других медиаторных систем — глутаматной, дофаминовой и ГАМК. Существует 7 семейств серотониновых рецепторов ($5\text{-HT}_{1\text{-}7}$), которые реализуют различный фармакологический эффект. Было выявлено, что анксиолитический эффект развивается при стимулировании 5-HT_{2b} или блокировании 5-HT_{2a}, 5-HT_3 и 5-HT_{5a} рецепторов (Спасов А. А. и др., 2013; Султанова К. Т. и др., 2018; Kurczab R. et al., 2018, Latacz G. et al., 2018). Поэтому серотонинергическая система остается перспективной мишенью для создания новых транквилизаторов (Jastrzębska-Więsek M. et al., 2017). Также среди 5-НТ-рецепторов подтип 5-HT_{1a} участвует в реализации механизмов тревоги и депрессии (Ковалев Д. Г., Лысенко Т.М. 2007), влияя на серотонинергическую нейротрансмиссию в нескольких областях мозга (Żmudzka E. et al., 2018, Belmer A. et al., 2019; Malikowska-Racia N., Popik P., Sałat K., 2019). 5-HT_6 и 5-HT_7 рецепторы положительно связаны с цАМФ (система вторичных мессенджеров аденилатциклазы) и в большом количестве представлены в кортиколимбических областях, то есть полосатом теле, коре, обонятельном бугороке, прилежащем ядре (в частности, рецепторы 5-HT_6), гиппокампе, гипоталамусе и миндалине, которые участвуют в контроле настроения и эмоций (Kurczab R. et al., 2018).

1.2.3. Моноаминооксидаза (MAO)

Моноаминоксидаза представляет собой FAD-зависимую аминооксидазу, расположенную на наружной мембране митохондрий в головном мозге, печени, слизистой оболочке кишечника и других органов, катализирующую окислительное дезаминирование биогенных аминов в альдегиды и играет существенную физиологическую роль в центральной нервной системе и периферических органах (Dhiman P., Malik N., Sobarzo-Sánchez E., 2019). Существует 2 изомера, MAO-A и MAO-B, которые кодируются 2 генами и отличаются различной чувствительностью к избирательным ингибиторам. MAO-A предпочтительно катализирует окисление серотонина и норэпинефрина, тирамина и дофамина и играет важную роль в психических расстройствах, таких как атипичное поведение, являющееся следствием повышенного стресса и биполярного расстройства. В то время как MAO-B селективно катализирует окисление фенилэтиламина и бензиламина, участвует в нейродегенеративных процессах (Paudel P., Seong S.H., Shrestha S., 2019). Надлежащее функционирование синаптическкой нейропередачи обусловлено быстротой разрушения биогенных аминов, которые имеют критически важное значение для регулирования эмоционального поведения и других функций мозга. Нежелательное повышение в плазме концентраций MAO-субстратов и продуктов реакций могут вызывать серьезные проблемы психического здоровья (Ziegler C., Domschke K. 2018; Paudel P., Seong S.H., Shrestha S., 2019; Knoll J. et al., 2020).

1.2.4. Транслокаторный протеин TSPO (18kDa)

Транслокаторный белок (18 кДа) (TSPO), ранее называемый периферическим бензодиазепиновым рецептором (PBR) (Arbo B. D., et al., 2015), располагается между наружной и внутренней митохондриальными мембранами. Функция данного протеина связана с переносом холестерола и участием в стероидогенезе, в частности и в нейростероидогенезе. Есть данные, подтверждающие связь экспрессии TSPO и психических расстройств (Nozaki K. et al., 2020). Лиганды TSPO обладают анксиолитической и антидепрессивной активностями без очевидных побочных эффектов бензодиазепинов (Da Silva T., Hafizi S., Watts J.J. 2019).

1.2.5. Глутаматные рецепторы

Метаботропные глутаматные рецепторы (mGluRs) составляют класс C рецепторов, связанных с G-белком (GPCR), и играют ключевую роль в глутаматергической сигнализации. Этот класс (GPCRs) состоит из трех подклассов, включая группы I (mGluR1 и mGluR5), II (mGluR2 и mGluR3) и III (mGluR4, mGluR6, mGluR7, и mGluR8). Группа I mGluRs соединена Gq и расположена главным образом постсинаптически, и их активация увеличивает NMDA рецепторную активность и возбудимость нейронов. Ингибирование mGluR5, который в основном находится в полосатом теле, гиппокампе, амигдале и лобной коре, считается потенциальным терапевтическим вмешательством в ряде психихических заболеваний – тревожно-депрессивных расстройств (Youssef E. A. et al., 2018).

Глутаминовая кислота является нейромедиаторной аминокислотой, одним из важных представителей класса «возбуждающих аминокислот» (Петров В. И. и др., 2002; Петров В. И. и др., 2015). Связывание глутамата со специфическими рецепторами нейронов приводит к возбуждению последних. Для нормального функционирования необходимо правильное соотношение в активности тормозящей ГАМКергической и возбуждающей глутаматергической системами. Гиперактивация глутаматергической системы может приводить к нейродегенеративным (Ковалев Д. Г., Васильев П.М., Озеров А.А., 2015) и тревожным расстройствам (Harvey B. H., Shahid M., 2012).

1.2.6. Опиоидные рецепторы

K, μ и δ опиоидные рецепторы, принадлежащие к подсемейству родопсинов семейства G-связанных рецепторов (GPCR), широко распространены во всей центральной и периферической нервной системе (Гречко О. Ю. и др., 2016; Спасов А. А. и др., 2019) Помимо модуляции боли и зависимости, эти три опиоидных рецептора и их эндогенные опиоидные пептиды также были вовлеченны в регулирование эмоциональных состояний (Спасов А. А. и др., 2014). Исследования с использованием агонистов δ-рецепторов показали, что их активация вызывает анксиолитические и антидепрессивные эффекты (Grechko O. Y., et al 2016), также, κ- и μ-рецепторы участвуют в регуляции эмоций: было показано, что рецепторы индуцируют анксиогенные, анксиолитические, депрессивные и антидепрессивные эффекты у разных животных в поведенческих моделях (Wang Q. et al., 2016).

1.2.7. Другие рецепторы и ионные каналы

Ингибиторы TRPC4 и TRPC5. Ионные каналы транзиторного рецепторного потенциала (Transient receptor potential channels) в большом количестве присутствуют в головном мозге особенно в коре и миндалине, где они регулируют передачу сенсорных сигналов. По ряду литературных источников роль TRPC4 и TRPC5 связана с поведенческими изменениями и чувством страха (Just S. et al., 2018).

Существуют литературные данные о роли гистаминовых H_3 - рецепторов в различных функциях мозга - познании, эмоциональном статусе, а также влиянии на стресс (Bahi A. et al., 2014; Alachkar A. et al., 2019; Yoshikawa T., Nakamura T., Yanai K., 2019).

Существуют данные о влиянии потенциалзависимых натриевых каналов на анксиолитическую активность (Pastore V. et al., 2018). В результате проведенного исследования было показано, что новый ряд химических соединений - α-гидроксиамидов, действующий посредством стабилизации нейрональных мембран тела нервной клетки, является перспективным новым химическим классом веществ с противосудорожным, антидепрессивным и анксиолитическим эффектами.

Также большой интерес представляет витамин D и его активная форма кальцитриол (Casseb G.A.S., Kaster M.P., Rodrigues A.L.S., 2019). Сообщается о роли окислительного стресса и воспаления в патофизиологии тревожных расстройств (Bouayed J., Soulimani R., 2019). В недавнем обзоре было отмечено, что соединения, способные противодействовать окислительному стрессу и нейроинфламмации, могут быть перспективными кандидатами для лечения тревоги (Santos P. et al., 2019, Casseb G.A.S., Kaster M.P., Rodrigues A.L.S., 2019).

Мелатонин (Hansen M. V. et al., 2015; Арушанян Э. Б., 2012) наиболее известен своими противовоспалительными свойствами (Jürgenson M. et al., 2019). Противовоспалительное действие мелатонина представляет особый интерес, поскольку оно наблюдается при нейродегенеративных заболеваниях, с предположительной актуальностью также при расстройствах настроения (Anderson G., 2018; Hardeland R., 2018).

У крыс, выращенных в условиях социальной изоляции, антагонист рецепторов грелина [D-Lys3]-GHRP-6 оказывал анксиолитическое действие, снижал исследовательскую активность, коммуникативное поведение и проявления агрессии. Был сделан вывод об участии грелиновой системы мозга в контроле эмоционально-исследовательского поведения и двигательной активности крыс, выращенных в условиях стресса и социальной изоляции (Шабанов П. Д. и др., 2017).

Рецептор σ-1(сигма) (σ- 1R) является потенциальной новой терапевтической мишенью для некоторых психических заболеваний, включая посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) (Середенин С. Б., Воронин М.В., Абрамова Е.В., 2017; Ji L. L. et al., 2017). Участвует во многих клеточных процессах, включая Ca^{2+} - опосредованный стресс эндоплазматического ретикулума и модуляцию ионных каналов. Рецептор σ_1 широко распространен в головном мозге и участвует в психических расстройствах, включая депрессию.

1.3. Побочные эффекты транквилизаторов

К основным побочным эффектам транквилизаторов относятся: гиперседация (сонливость, снижение концентрации внимания, забывчивость), миорелаксация, нарушение когнитивных функций и психомоторных навыков, парадоксальные реакции - усиление ажитации и агрессивности, нарушение сна, а также психическая и физическая зависимость (Бородин В. И., 2016, Спасов А.А. и др., 2018), возникающая при длительном применении (6-12 мес непрерывного приема) и проявляется феноменами, схожими с невротической тревогой (Бородин В. И., 2016 Таран А.С., 2017;). Следует сказать, о гораздо большей частоте возникновения данных нежелательных явлений у лиц пожилого возраста (Burchinskii S. G., 2018). Более серьезные побочные реакции могут проявляться при сочетанном использовании бензодиазепиновых транквилизаторов и алкоголя: выраженная сонливость, психомоторная заторможенность и угнетение дыхания. Транквилизаторы свободно проникают через плацентарный барьер и могут угнетать дыхание ребенка, а также нарушать правильное развитие плода (Усова А. А., Напалков И.В., Иванова Т.Т., 2018). В связи с этим их не рекомендуется применять в период беременности и лактации. Возникновение синдрома отмены, свидетельствующего о формировании зависимости, прямо коррелирует с продолжительностью лечения транквилизаторами. Причем некоторые исследования подтверждают его вероятность у части больных даже в отношении курсового применения малых доз бензодиазепинов. К наиболее часто встречающимся признакам синдрома отмены транквилизаторов относятся: желудочно-кишечные расстройства, повышенное потоотделение, тремор, сонливость, головокружение, головные боли, непереносимость резкого звука и запаха, шум в ушах, деперсонализационные ощущения, а также раздражительность, беспокойство, бессонница. У ряда больных проявления синдрома отмены транквилизаторов могут быть очень тяжелыми и длиться до 0,5-1 года (Бородин В. И., 2016).

1.4. Современные направления поиска транквилизаторов

Была проведена оценка современных направлений поиска новых средств, с транквилизирующей активностью. В данном разделе представлены результаты доклинических исследований некоторых химических классов веществ с различными механизмами действия, проведенных за последние годы. При составлении данного раздела были рассмотрены такие основные параметры как: выраженность основного эффекта вещества, токсичность и наличие/отсутствие побочных действий.

1.4.1. ГАМК-ергическая система

В данном разделе рассмотрены химические соединения, изученные за последние годы, преимущественно с ГАМК-ергическим механизмом действия.

1.4.1.1. Агонисты ГАМК-рецепторов

Конденсированные производные пиразолохинолина **PQ** (Rivilli M. J. L. et al., 2018). Эти вещества были получены и испытаны как агонисты бензодиазепинового сайта ионотропного ГАМК$_A$-рецептора, обладающие к нему высоким сродством. Преимуществом данных соединений по сравнению с бензодиазепинами является отсутствие нежелательного эффекта седации. Предполагаемая ГАМКергическая анксиолитическая активность веществ была доказана с помощью радиолигандного метода исследования. Проводился детальный химический анализ, в котором авторы делают заключение о том, что соединения обладают высокой селективностью связывания с бензодиазепиновым участком ГАМК$_A$- рецептора. Анксиолитическая активность была подтверждена экспериментально в ряде поведенческих тестов. Авторами делается вывод о наличии достоверного эффекта в дозах 0,5 и 1 мг/кг. Кроме того, авторы указывают на то, что **PQ** (Рисунок 1) хорошо абсорбируются и хорошо проникают через гематоэнцефалический барьер.

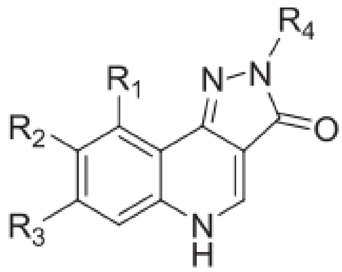


Рисунок 1. Общая формула производных пиразоло[4,3-c]хинолин-3-онов (PQ) (Rivilli M. J. L. et al., 2018).

Производные диазепинобензимидазола – **ДАБ** (Спасов А. А. и др., 2018). Химическая структура изучаемых веществ включает в себя диазепиновый фрагмент (Рисунок 2), который встречается у лекарственных средств с анксиолитическими, противосудорожными, антидепрессивными свойствами, а также бензимидазольный скаффолд, входящий в состав веществ с анксиолитической и противосудорожной активностями. В результате проведенного анализа *in silico* в системе PASS было определено наличие выраженного нейропсихотропного спектра фармакологической активности нового класса производных (Таран А.С. и др., 2017). При рассмотрении химической структуры наиболее перспективного соединения - ДАБ-19, показавшего в тестах *in vivo* выраженный антифобический потенциал, авторы делают предположение о том, что высокая анксиолитическая активность исследуемого вещества связана с тем, что диазепинобензимидазольный скаффолд соединения ДАБ-19 связан короткой цепью (-CH2-) с бензольным кольцом, у которого триметильный заместитель находится в параположении.

Производные диазепинобензимидазола позиционируются как вещества, влияющие на различные системы регуляции центральной нервной системы (ГАМК-ергическая, серотонинергическая системы др.), что может являться перспективным фактором в дальнейших исследованиях нейропсихотропного профиля. Так, в работе описывается большое количество тестов, направленных на изучение анксиолитического, антидепрессивного, поведенческого, анальгетического и антикомпульсивного видов активностей. По результатам исследований, представленных в статьях, соединения-лидеры изучаемого ряда веществ ДАБ превосходят препараты сравнения и являются перспективными для углубленного изучения нейропсихотропного профиля.

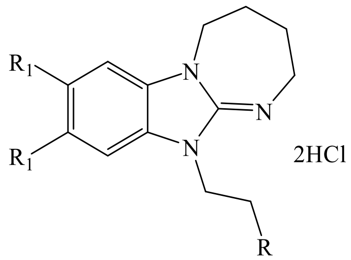


Рисунок 2. Общая формула производных диазепинобезимидазола (ДАБ) (Спасов А. А. и др., 2018).

1.4.1.2. Аллостерические модуляторы ГАМК$_A$– рецептора

Ранее (Akbar S. et al., 2017) были открыты свойства природных флавоноидов как позитивных модуляторов ГАМК$_A$-рецепторов, лишенные побочных эффектов бензодиазепинов. В результате радиолигандного исследования **6-MeOF** (6-methoxyflavanone) было показано, что молекулярный связующий сайт отличается от других известных флавоноидных модуляторов ГАМК-рецепторов, он действует на γ-субъединицы, нечувствительные к антагонизму флумазенила (Рисунок 3). Изучение активности вещества 6-MeOF проводилось на моделях *in vivo* антифобического действия при внутрибрюшинном введении, исследуемое вещество вводилось в дозах 10 - 100 мг/кг. Препаратом сравнения был диазепам (2 мг/кг).

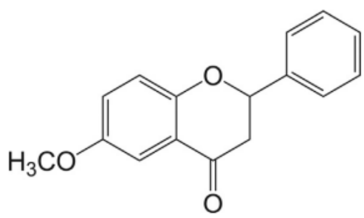
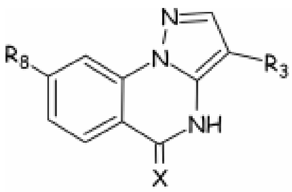
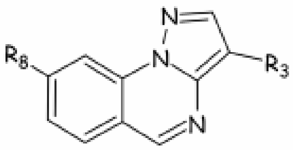


Рисунок 3. Химическая структура соединения 6-MeOF (Akbar S. et al., 2017).

Для производных бензотриазина **3a-12b** (Рисунок 4), была показана способность вытеснять [H^3] флумазенил из бензодиазепинового сайта связывания (Guerrini G., Ciciani G., Crocetti L., 2017). Вещества были синтезированы из исходного соединения этилпиразоло [1,5-a] хиназолин-3-карбоксилат, показывающие значительное сродство с ГАМК$_A$ рецепторами. Было выяснено, что соединения имеют сродство к α2 и α3 субъединицам. Химическую модификацию осуществляли либо введением метоксигруппы в C^8 или изменением этоксикарбонильной функциональной группы в арильную (гетеро) алкильную сложноэфирную группу. При изучении нейропсихотропных эффектов *in vivo* было показано, что соединение **12b** является наиболее активным среди изучаемых. Данное вещество не вызывало нейротоксических эффектов и не изменяло моторику и координацию движений у исследуемых животных.



8, 10, 14a-14c



3a-3c, 5a-5b, 12a-12c, 13a-13c

Рисунок 4. Общие химические структуры соединений 3a-12b (Guerrini G., Ciciani G., Crocetti L., 2017).

1.4.1.3. Положительные аллостерические модуляторы (ПАМ) ГАМК$_B$-рецепторов

SSD114 (Рисунок 5) - производное пиримидина (Porcu A. et al., 2016). Молекула имеет центральное плоское шестичленное кольцо с заместителями различной полярности. Как предполагают авторы, вторичные амины могут быть ответственны за взаимодействие связывания водорода с рецептором, тогда как плоская ароматическая система может взаимодействовать с гидрофобным фрагментом рецептора. По данным, приведенным в статьях, SSD114 проявляло фармакологическую активность в отношении ГАМК$_B$ ПАМ. Было показано, что ГАМК-ергическое влияние изучаемого соединения полностью отменяется, при применении антагониста ГАМК $_B$ – рецепторов CGP54626.

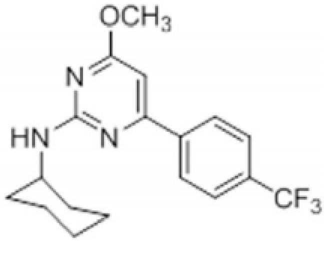


Рисунок 5. Химическая структура соединения SSD114 (Porcu A. et al., 2016).

1.4.1.4. Селективный ингибитор транспортера ГАМК GAT1

На сегодняшний день было обнаружено пять транспортеров ГАМК (GAT), одним из которых является везикулярный транспортер, другие четыре (GAT 1, 2, 3 и 4) являются мембранными белками, принадлежащими семейству генов-носителей (SLC6A) Na^+ - независимых транспортеров. В связи с их ключевой ролью в регуляции концентрации ГАМК в головном мозге, GAT, в частности GAT1, стали перспективной мишенью для создания новых лекарств для лечения заболеваний ЦНС (Тиагабин) (Давыдов О. С., 2016; Щербакова И. В., Крылатых В.Ю., Барденштейн Л.М., 2017).

DDPM-2571 (Рисунок 6) - производное гувацина (Sałat K. et al., 2017; Podkowa A. et al., 2016). Данные, полученные при исследовании вещества на животных моделях тревоги и депрессии в дозе 5 мг/кг, статистически достоверно превышали показатели группы контроля и препарата сравнения диазепама.

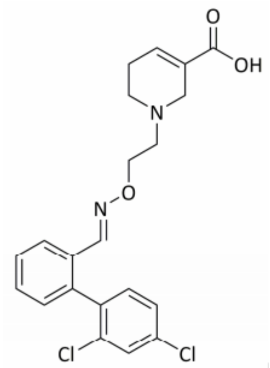


Рисунок 6. Химическая структура соединения DDPM-2571 (Sałat K. et al., 2017; Podkowa A. et al., 2016).

1.4.2. Катехоламинергическая и серотонинергическая системы

LQFM180 (Рисунок 7) производное пиперазина (Brito A. F., Braga P.C., Moreira L.K., 2018). Соединение с полимодальным типом действия, для которого показана анксиолитическая и антидепрессивная активности. В химической структуре LQFM180 имеется базовая часть производных пиперазина и бутилированный гидрокситолуол - соединение с выраженными антиоксидантными свойствами. Эксперименты *in vivo* проводились на моделях тревоги, животным каждой группы вводили изучаемое вещество внутрижелудочно в дозах 9,4 - 75,2 мг/кг. Анксиолитическая активность соединения LQFM180 превышала эффект группы препарата сравнения диазепама (5 мг/кг) по всем изученным методикам. Исследование антидепрессивной активности было продолжено с использованием антагонистов – празозин, пропранолол, галоперидол сульпирид, а также PCPA и AMPT в качестве изучения моноаминергических аспектов механизма действия данного соединения. В итоге авторы делают заключение о том, что антидепрессивная эффект LQFM180 осуществляется посредством влияния на серотонинергический, дофаминергический и норадренергический пути (Brito A. F., Braga P.C., Moreira L.K., 2018).

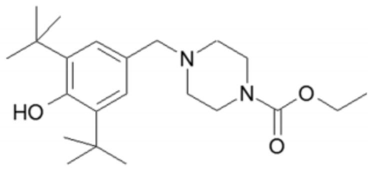


Рисунок 7. Химическая структура соединения LQFM180 (Brito A. F., Braga P.C., Moreira L.K., 2018).

Для производного хинолинона соединения под лабораторным шифром **D2AAK1** (Рисунок 8) (Kaczor A. A. et al., 2016) показан политаргетный механизм действия: D_1-, D_3-, 5-HT_{1a}- и 5-HT_{2a}-рецепторное действие, что обусловливает его антипсихотический и анксиолитический эффекты. Изучение атифобической активности *in vivo* проводилось в дозе 100 мг/кг, внутрибрюшинно. По полученным результатам исследований на животных соединение D2AAK1 проявляет выраженную анксиолитическую и антипсихотическую активность, поскольку снижает гиперактивность, вызванную амфетамином в опытах на мышах (классический тест для потенциальных нейролептиков). Более того, D2AAK1 оказывает анксиолитическое действие, характерное для антипсихотиков второго поколения, таких как рисперидон и зипразидон.

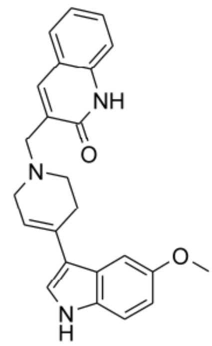


Рисунок 8. Химическая структура соединения D2AAK1 (Kaczor A. A. et al., 2016).

Соединение под лабораторным шифром **ADN-1184** (Рисунок 9) производное арилсульфаниламида с 5-$HT_{6/5}$-$HT_{7/5}$-HT_{2a}/D_2-рецепторной активностями (Partyka A. et al., 2016). В исследованиях *in vivo* авторами было доказано, что соединение в дозе 0,3 мг/кг проявляет статистически значимую анксиолитическую и антидепрессивную активности.

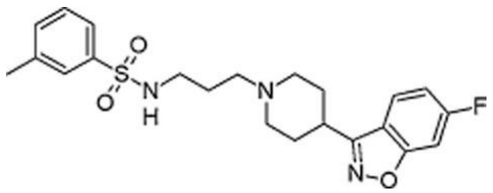


Рисунок 9. Химическая структура соединения ADN-1184 (Partyka A. et al., 2016).

Соединение **RU-476 -** производное имидазобензимидазола (Спасов А.А. и др., 2016; Яковлев Д.С. и др., 2015) (Рисунок 10) Авторами было показано наличие нейропсихотропной ативности у производного бензимидазола в моделях *in vivo* при однократном и хроническом введении Изучаемое соединение в дозе 0,5 мг/кг проявило выраженную анксиолитическую активность, относительно группы препарата сравнения диазепама в дозе 1 мг/кг.

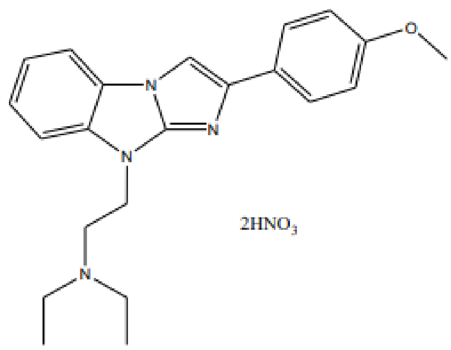


Рисунок 10. Химическая структура соединения RU-476 (Яковлев Д.С. и др., 2015; Спасов А.А. и др., 2016).

1.4.3. Ингибиторы моноаминооксидазы (ИМАО)

Соединения **PFC-1-PFC-16** (Рисунок 11) производные пиразолина (Upadhyay S. et al. 2017) были выбраны как наиболее активные среди всех синтезированных производных. Вещества демонстрировали значительную противотревожную и антидепрессивную активность на различных поведенческих моделях *in vivo*. По результатам исследований, направленных на изучение дозозависимых анксиолитических эффектов, было продемонстрировано, что синтезированные производные 1,3,5-тризамещенные-2-пиразолины в широком диапазоне доз проявляют анксиолитическую и антидепрессивную активности.

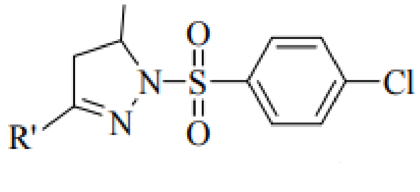
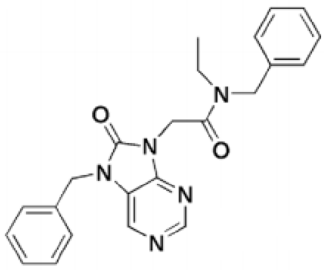


Рисунок 11. Химическая структура соединений PFC (Upadhyay S. et al. 2017).

1.4.4. Ингибиторы транслокаторного протеина TSPO (18kDa)

Соединение **ZBD-2** (Рисунок 12) - производное пурина (Wang D. et al. 2015; Li X. et al. 2018), лиганд для транслокаторного протеина. Обладает анксиолитической, антидепрессивной и анальгезирующей активностями. Также для субстанции было показано нейропротекторное действие. Эксперименты *in vivo* проводились на поведенческих моделях в дозах 0,75 – 3,0 мг/кг, при внутрижелудочном введении. Соединение позиционируется как препарат для лечения послеродовой депрессии женщин, сопровождающейся повышением стрессового и депрессивного состояния.



yl

Рисунок 12. Химическая структура соединения ZBD-2 (Wang D. et al. 2015; Li X. et al. 2018).

В ранее проведенных (Zhang L. M. et al., 2014; Shang C. et al., 2019) исследованиях с антагонистом PK11195 была доказана высокая аффинность соединения **YL-IPA08** (Рисунок 13) – производного пиридина, к транслокаторному протеину. Соединение показало относительно высокое сродство к TSPO (IC_{50} = 0,23 nm).

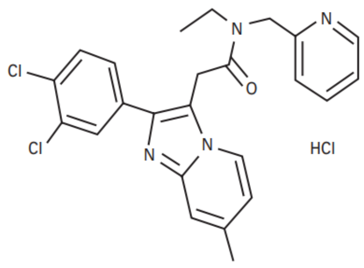


Рисунок 13. Химическая структура соединения YL-IPA08 (Shang C. et al., 2019; Zhang L. M. et al., 2014).

Было обнаружено, что соединение YL-IPA08 показывает заметные антидепрессивные и анксиолитические эффекты в нескольких животных моделях, при хроническом введении в дозах 3-6 мг/кг, но не вызывает побочных эффектов, которые обычно связаны с классическими бензодиазепинами, таких как миорелаксация и когнитивные расстройства. Авторы позиционируют соединение как перспективное средство в терапии посттравматичесого стрессового расстройства.

1.4.5. Глутаматные рецепторы

Производное хинолина **4-PSQ** (Рисунок 14) (Reis A.S., Pinz M., Duarte L.F. B., 2017). Авторами делается предположение о вовлеченности глутаматергической системы в реализацию транквилизирующего эффекта, поскольку соединение 4-PSQ ингибирует захват [H^3]глутамата. Кроме того, были проведены дополнительные исследования, подтверждающие задействованность глутамата в анксиолитический эффект вещества на каинатовой модели, оценивалась эффективность ингибирования 4-PSQ каинат-индуцированного тревожного поведения. Авторы сообщают о снижении проявления страха у исследуемых животных. Анксиолитическая активность *in vivo* была доказана на нескольких моделях в дозировках 5-50 мг/кг, вещество вводилось внутрижелудочным способом.

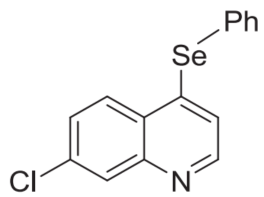


Рисунок 14. Химическая структура соединения 4-PSQ (Reis A.S., Pinz M., Duarte L.F. B., 2017).

1.4.6. Опиоидные рецепторы

ATPM-ET – производное тиазола. Авторами была доказана анксиолитическая и антидепрессивная активность соединения на моделях *in vivo* (Q. Wang et al., 2016) после подкожного введения субстанции в дозах 1 и 2 мг/кг. При совместном введении с κ - антагонистом nor-BNI происходило снижение анксиолитического эффекта вещества, что может свидетельствовать о κ - рецепторном механизме действия. Также было проведено исследование в тесте предпочтения места с бупренорфином, антагонистом κ - и частичным агонистом μ – рецепторов, чтобы определить влияние ATPM-ET в эмоциональных реакциях. Авторами было обнаружено, что ATPM-ET в дозе 2 мг/кг не индуцируют негативных эмоций у мышей, соединение рассматривается как антагонист κ - и частичный агонист μ - опиоидных рецепторов (Рисунок 15).

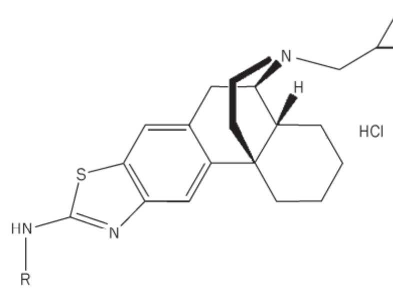


Рисунок 15. Химическая структура соединения ATPM-ET (Q. Wang et al., 2016).

Серия производных 1,2,3-триазола (Рисунок 16) с агонистическим μ-рецепторным профилем (Montes G.C., Da Silva B.N.M., Rezende B., 2017), данные соединения являются синтезом двух привилегированных структур – триазола, проявляющего эффекты на цнс (снижение тревоги, депрессии и т.д.) и изатинового скаффолда (снотворный эффект). По результатам *in vivo* тестов, авторами делается заключение, что при введении исследуемым животным наиболее активного соединения **PILAB 8 (**25 мкмоль/кг, интраперитонеально), наблюдается достоверное проявление анксиолитического эффекта, превышающий эффект препарата сравнения мидазолама. К тому же, был изучен механизм действия PILAB 8 посредством совместного введения с неспецифическим антагонистом опиоидных рецепторов – налоксоном в одном из тестов, а также с μ-антагонистом CTOP - в другом, в результате исследования было показано, что налоксон блокировал анксиолитический эффект изучаемого вещества, а CTOP снижал продолжительность сна (Hypnosis Following).

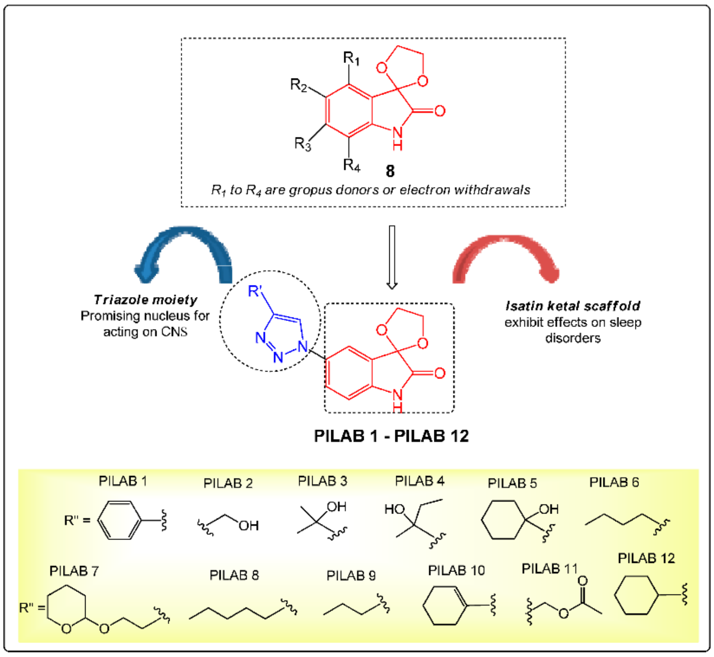


Рисунок 16. Химическая структура соединений PILAB (Montes G.C., Da Silva B.N.M., Rezende B., 2017).

1.4.7. Ингибиторы $TRPC_4$ и $TRPC_5$

Соединение **M084** (Zhu Y. et al., 2015; Just S. et al., 2018) - производное бензимидазола, потенциальный ингибитор TRPC4 и TRPC5. В тестах *in vivo* (2-40 мг/кг, интраперитонеально) оказывает анксиолитический и антидепрессивный эффект и является перспективным соединением для дальнейшего изучения психотропной активности (Рисунок 17).

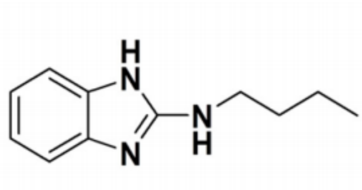


Рисунок 17. Химическая структура соединения M084 (Zhu Y. et al., 2015; Just S. et al., 2018).

1.4.8. Иные лиганды, проявляющие анксиолитическую активность

Два ряда соединений – 11-бифенилметилзамещенные 11H-[1,3]диазепино[1,2-α]-бензимидазолы под шифрами **BIF**, а также функционально-замещенные по алкильной группе 2-алкилтиобензимидазолы **AZH** (Спасов А.А. и др., 2020). В результате проведенного *in vivo* исследования, было установлено, что оба типа структур обладают выраженным анксиолитическим действием. Было показано, что концепция совмещения 2 подклассов: бензимидазола и бифенила – BIF (Рисунок 18) в первом случае, а также производных 2-меркаптобензимидазола – AZH (Рисунок 19) в другом, при синтезе базовой структуры, является перспективной, соединения проявляли различный уровень антифобического действия, сопоставимый с препаратом сравнения, также являющимся химическим аналогом изучаемых веществ – афобазолом (Незнамов Г. Г. и др., 2010). Было высказано предположение о полимодальном механизме действия изучаемых веществ ввиду различных химических частей, входящих в коровую структуру соединений.

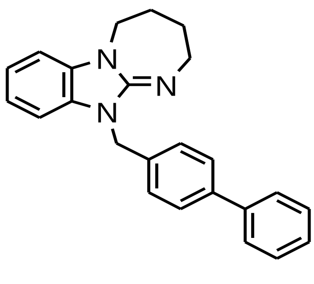


Рисунок 18. Химическая структура соединений BIF (Спасов А.А. и др., 2020).

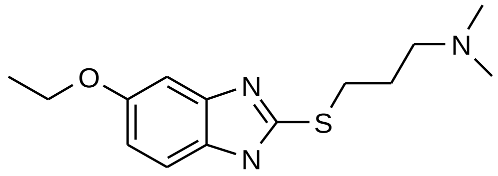


Рисунок 19. Химическая структура соединений AZH (Спасов А.А. и др., 2020).

Группа исследователей (Pastore et al., 2018) изучала фармакологическую активность соединений N-пропил-2,2-дифенил-2-гидрокси ацетамидов, среди которых было выбрано **Соединение 5** (Рисунок 20), которое было изучено на предмет нейропсихотропной активности. Посредством электрофизиологических и радиолигандных исследований было выяснено, что механизм анксиолитического действия не связан с ГАМК- или 5-HT-рецепторами, авторами был предположен механизм ингибирования веществом потенциалзависимых натриевых каналов. Для подтверждения своей теории авторы использовали культуру клеток HEK293 с применением методики patch-clamp. При изучении фармакологической активности *in vivo* Соединение 5 (10мг/кг, интраперитонеально) показало выраженное проявление антифобического и антидепрессивного действия без изменения локомоторной активности исследуемых соединений.

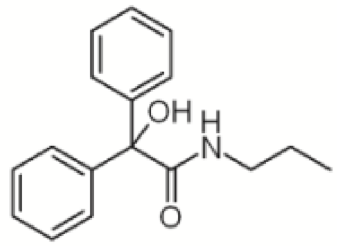


Рисунок 20. Химическая структура **соединения 5** (Pastore et al., 2018).

1.5. Комбинаторный подход в создании новых нейропсихотропных средств

Некоторые из вышеуказанных соединений содержат привилегированные структуры (Спасов А.А. и др., 2020; Kaczor A. A. et al., 2016; Montes G.C., Da Silva B.N.M., Rezende B., 2017). Согласно современному определению Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC) привилегированные структуры являются «субструктурными элементами, придающими желаемые (зачастую подобные лекарственным) свойства соединениям, содержащим эти элементы. Они часто состоят из полужёсткого молекулярного каркаса, способного взаимодействовать с множественными гидрофобными остатками белкового кармана, не подвергаясь при этом гидрофобному коллапсу». Привилегированная структура должна состоять из “Единой молекулярной структуры, способной обеспечить лиганды для различных рецепторов. Такая химическая комбинация обеспечивает универсальный шаблон, на котором можно разместить несколько функциональных групп или создать хиральные центры, что позволяет медицинским химикам использовать методы разработки лекарственных препаратов, чтобы адаптировать соединение непосредственно к его цели (Smith S. G., Sanchez R., Zhou M.M., 2014). Одними из таких примеров в медицинской химии являются фенилзамещенные моноциклы (бифенилы, производные дифенилметана, 1,4-дигидропиридины, и др.), и гетероциклические системы (пурины, бензодиазепины, бензопираны, кумарины и пиранокумарины, хиноксалины, хиназолины, индолы, бензимидазолы, бензофураны, бензотиофены и др.) (Бачурин С. О., 2018).

Бензодиазепиновый скаффолд классифицируется как привилегированная гетероциклическая система, которая является структурной основой большого количества соединений, проявляющих нейропсихотропные свойства (Jakubczyk D., 2015). Более поздние детальные исследования показали, что улучшение биологической активности, метаболической стабильности и других профилей бензодиазепинового скаффолда может быть достигнуто, когда создается гибридная структура – связь двух или более скаффолдов воедино (Luan L. et al., 2018). Среди различных публикаций сообщалось о 1,2,4-триазол-конденсированных 1,4-бензодиазепинах: триазолам, эстазолам, алпразолам и пиразолам как яркие примеры таких гибридных лекарственных средств, обладающие улучшенными эффектами на нейромедиатор γ-аминомасляную кислоту (ГАМК) на ГАМК$_A$-рецептор и обладающие более низкой токсичностью (Luan L. et al., 2018). Мидазолам (Таблица 1.1) является хорошо известным имидазобензодиазепином из-за его седативных и снотворных фармакологических свойств, обычно используется для снятия тревоги; имеет быстрое время восстановления и является наиболее часто используемым бензодиазепином для премедикации (Hemming K., 2017).

Суть гибридного подхода (спасов а.а. и др., 2018) - синтеза базовой структуры диазепина и базовой структуры бензимидазола заключается в создании соединений, обладающих:

- Сниженным или минимизированным перечнем побочных эффектов, присущих производным диазепина, наиболее важными из которых являются - зависимость, аддикция, седация;
- Выраженным противотревожным действием, не уступающим производным диазепина и производным бензимидазола;
- Полимодальным механизмом действия – так как патогенез большого количества тревожных расстройств связан с нарушением не одной, а нескольких систем;
- Быстрым началом действия основного эффекта, схожим с активностью производных диазепина;

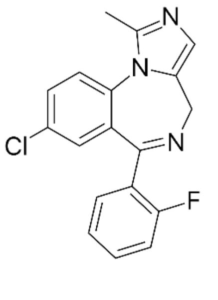
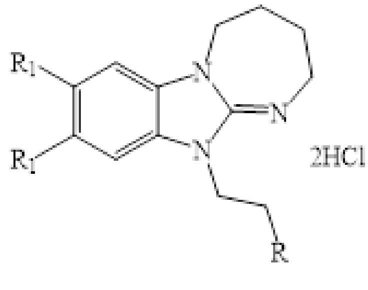
- Возможностью применения пациентами, чья профессиональная деятельность связана с повышенным вниманием (водители, авиадиспетчеры и т.д.) – поиск и разработка дневных транквилизаторов.

Производные диазепина – мидазолам, диазепам, алпразолам – обладают выраженным противотревожным действием, описанным в большом количестве мировой литературы, обусловленным ГАМК-ергическим механизмом действия (Таран А.С., 2017; СпасовА.А. и др., 2018; Manouchehri N., Abbasi-Maleki S., Mousavi Z., 2019). Производные бензимидазола – фабомотизол – также обладают выраженными антифобическими свойствами (Kalinina T. S. et al., 2016; Voronin M. V., Kadnikov I.A., 2016). В отличие от производных диазепина, фабомотизол обладает менее выраженными побочными свойствами, а также более длительным и «мягким» началом действия противотревожного эффекта. К тому же, производные бензимидазола обладают иным механизмом действия. Данные соединения действуют на сигма-1 рецепторы, MT1 рецепторы (мелатониновый рецептор, тип 1), мелатонин-зависимый регуляторный сайт (мелатониновый рецептор, тип 3), как ингибиторы хинон редуктазы 2 и МАО-А.

С химической точки зрения все изучаемые в данной работе соединения – являются привилегированными структурами, базовая часть которых состоит из диазепинового и бензимидазольного скаффолдов, наиболее схожая с химической структурой мидазолама, (Таблица 1.1) являющегося имидазобензодиазепиновым гибридным соединением (Hemming K. et al., 2017). Главная разница состоит в перестройке основных фрагментов коровой структуры – пяти-, шести- и семичленных гетероциклов между собой.

Ранее (Таран А.С. и др., 2017), в результате скрининговых исследований ряда новых соединений, было выявлено, что химический класс производных диазепино[1,2a]бензимидазола, полученный путем комбинации двух привилегированных подструктур, является перспективным с точки зрения разнообразия фармакологических эффектов и низкого риска развития нежелательных эффектов.

Таблица 1.1 – Сравнение химической структуры мидазолама и коровой структуры изучаемых производных диазепинобензимидазола

 **Мидазолам**	

8-Хлор-6-(2-фторфенил)-1-метил-4Н-имидазо[1,5-a][1,4]бензодиазепин	**Базовая структура исследуемых производных диазепинобензимидазола** 11-R-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид

Изучаемые соединения согласно проведенному прогнозу *in silico* с помощью системы PASS проявляли эффективность в отношении заболеваний сердечно-сосудистой системы, обладали нейропсихотропной активностью и иммунными свойствами (Таран А.С. и др., 2017).

1.6. Заключение

Таким образом, активно развивается направление комбинированых привилегированных структур с целью получения высокоактивных веществ, которые могли бы действовать одновременно на несколько видов мишеней, проявляя тем самым полимодальное воздействие. Производные бензимидазола обладают низким риском развития нежелательных побочных эффектов, в отличие от диазепинов. Совмещая активные каркасы лекарственных веществ, исследователи поставили цель добиться увеличения активности препаратов наряду с уменьшением нежелательных реакций. Исследование фармакологической активности нового класса химических соединений – производных диазепинобензимидазола на сегодняшний день является весьма актуальным.

В рамках планируемой исследовательской деятельности определенный интерес представляет проведенная ранее работа (Таран А.С. и др., 2017), в которой была показана фармакологическая перспективность аналогичного ряда из химического класса - производных диазепинобензимидазола. Планируемая работа является продолжением, углублением и расширением экспериментального доклинического материала, полученного ранее. Основная направленность будет связана с изучением широкого спектра нейропсихотропных свойств новых производных диазепинобензимидазола и формированием представления и перспективности новых соединений в сфере транквилизирующих средств с учетом ранее поставленных рекомендаций (дальнейшая разработка в качестве потенциальных препаратов нейропсихотропного действия (Таран А.С. и др., 2017)), включая и химические модификации исследуемых веществ. Данная работа направлена на расширение и углубление понимания механизмов действия изучаемых производных, а также степени проявления различных видов нейропсихотропной активности – анксиолитической, антидепрессивной, антикомпульсивной, анальгетической и др., а также изучении токсического действия на организм.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Материалы исследования

В исследовании было изучено 15 производных 11-замещенных-2,3,4,5 – тетрагидро [1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазола. Все вещества синтезированы в НИИ физико-органической химии Южного федерального университета[1]. Настоящая работа является продолжением научного исследования по изучению нейропсихотропных свойств производных диазепинобензимидазола, проводимого на кафедре фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ (Мальцевым Д.В., Таран А.С., 2017). Производные диазепинобензимидазола были оптимизированы с учетом ранее полученных практических рекомендаций. Были отобраны новые ряды синтезированных соединений – ДАБ-30-х и ДАБ-40-х шифров, а также вещества, ранее проявившие активность в отношении иных нейропсихотропных эффектов. Соединения, представленные в работе, ранее не изучались на предмет наличия анксиолитической активности. Так, соединения ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-41 являются новыми производными 11-Алкил- и Бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола (дигидрохлориды) (Таблица 2.1). Ранее, соединения данного класса присутствовали в работе Таран А.С. (ДАБ-15, ДАБ-19, ДАБ-27, ДАБ-28, ДАБ-29) и показали высокую противотревожную активность. Отличительной особенностью новых соединений данного ряда является наличие молекул хлора в радикальном заместителе, а также метильные заместители в положении C^8 и C^9 коровой структуры соединений ДАБ-36 и ДАБ-39 (отличительная особенность производных ДАБ-30-х шифров). Соединения ДАБ-43 и ДАБ-44 являются производными 11-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола. В отличие от ранее тестируемого представителя данного класса (ДАБ-24), в радикальной структуре новых соединений присутствует атом фтора, а также метильные заместители в положении C^8 и C^9 (ДАБ-44). Соединения ДАБ-21 и ДАБ-34 являются производными 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола (дигидрохлориды). Новые вещества отличаются от ранее представленных (ДАБ-20, ДАБ-22, ДАБ-23) природой новых радикалов – пирролидилэтильный радикал (ДАБ-21), и морфолинилэтильный радикал (ДАБ-34) с метильными заместителями в положении C^8 и C^9. Соединение ДАБ-35 – производное 11-Карбокси-(карбэтокси)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола, ранее представители данного ряда веществ не изучались на предмет

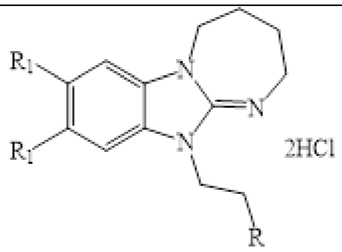
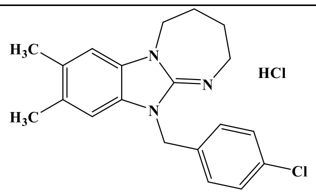
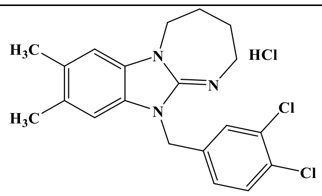
[1] Выражаем признательность сотрудникам лаборатории синтеза биологически активных соединений Морковник А.С., Анисимовой В.А., Диваевой Л.Н., Кузьменко Т.А., Кощиенко Ю.В., Богославцевой М.В. за синтез и предоставление субстанций веществ производных 11-замещенных-2,3,4,5 – тетрагидро [1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазола для настоящего исследования.

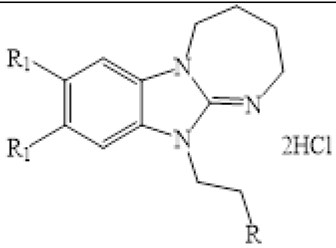
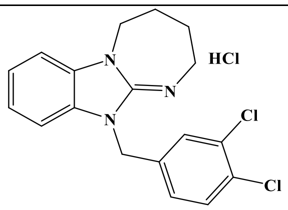
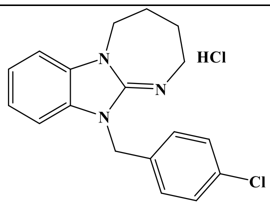
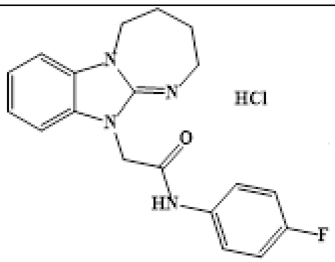
анксиолитической активности. Соединения ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-32, ДАБ-33, ДАБ-45 являются производными 11-Фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола (гидрогалогениды). В структуре новых соединений в отличие от ранее исследуемых (ДАБ-4, ДАБ-5, ДАБ-7, ДАБ-8, ДАБ-12, ДАБ-17, ДАБ-18) присутствуют иные фенацильные радикалы в N^{11} положении, содержащие молекулы хлора или брома, а также метильные заместители в положении C^8 и C^9 (ДАБ-32 и ДАБ-33).

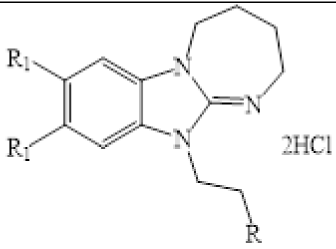
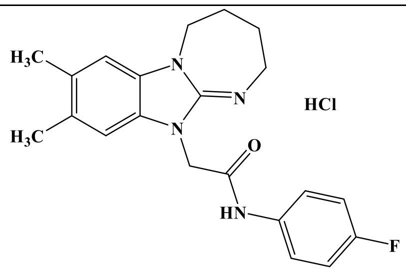
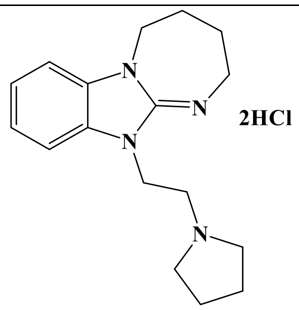
При проведении экспериментов были использованы следующие вещества: диазепам (субстанция-порошок мешок (мешочек) полиэтиленовый, ФИС-Фаббрика Италиана Синтетици С.п.А. (Италия)), коразол («Sigma», США), имипрамин (драже 25 мг, Нанолек ООО (Россия)), амитриптилин (таблетки 25 мг, Московский эндокринный завод ФГУП (Россия)), буторфанол (раствор для внутривенного и внутримышечного введения 2 мг/кг, Московский эндокринный завод ФГУП (Россия)), флумазенил (внутрибрюшинное введение 0.5 мг/5 мл, Cenexi SAS (Франция)), пикротоксин («Sigma», США), галоперидол (раствор для внутримышечного введения 5 мг/мл, Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко (Россия)), L-ДОФА («Sigma», США), апоморфин («ICN Biomedical», США), афобазол («Отисифарм», Россия).

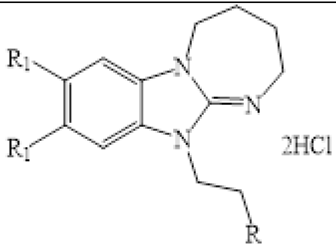
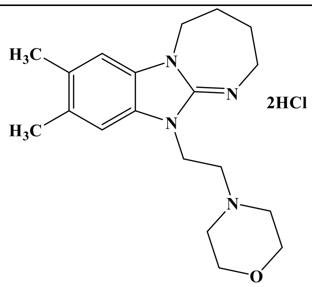
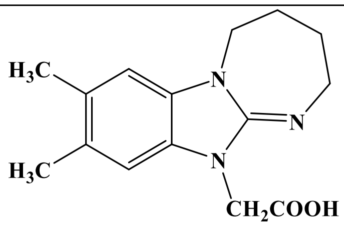
Исследования проведены на 636 нелинейных половозрелых белых мышах-самцах массой 22-25 г. и 138 нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180-200 г. Животные содержались в условиях вивария кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ с естественным световым режимом при относительной влажности воздуха 40-50% и температуре 22-24˚С на стандартной полнорационной диете для лабораторных животных (ГОСТ Р 50258-92). Содержание животных и экспериментальные манипуляции отвечали директивам 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г по охране животных, используемых в научных целях, а также правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»; Приказ Минздрава России от 01.04.2016 N 199н "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики"). Все исследования были одобрены к проведению Региональным независимым этическим комитетом при ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр» (протокол № 191-2014 от 25 февраля 2014 года.).

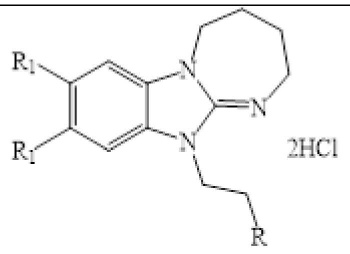
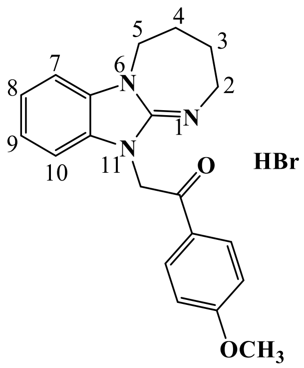
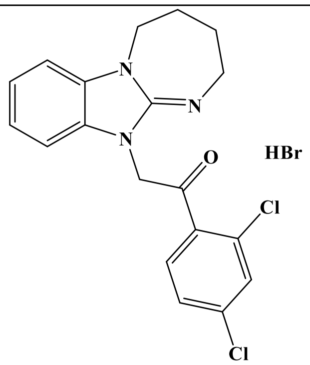
Таблица 2.1 – Химическое строение изучаемых производных 11-замещенных-2,3,4,5 – тетрагидро [1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазола

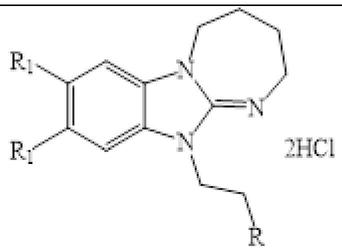
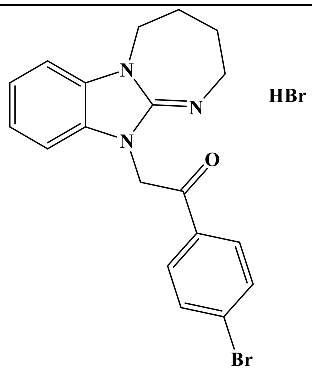
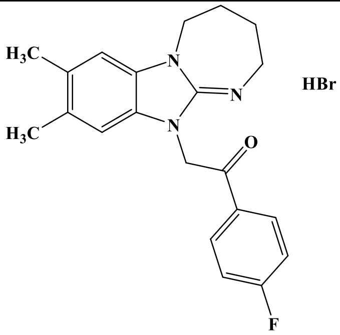
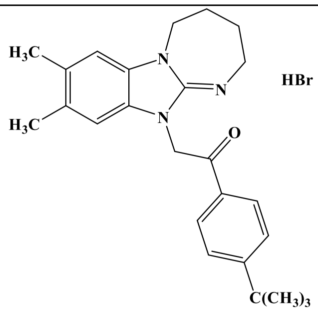
Общая формула				
 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид				
Номер	Шифр вещества	Структура	Название соединения	Название радикала в положении N^{11} тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазола
11-Алкил- и Бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола дигидрохлориды:				
1	**ДАБ-36**		8,9-Диметил-11-(4-хлорбензил)-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазол гидрохлорид	4-хлорбензил
2	**ДАБ-39**		8,9-диметил-11-(3,4-хлорбензил)]-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]диазепино[1,2-a]бензимидазола гидрохлорид	3,4-хлорбензил

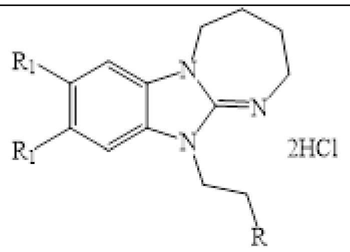
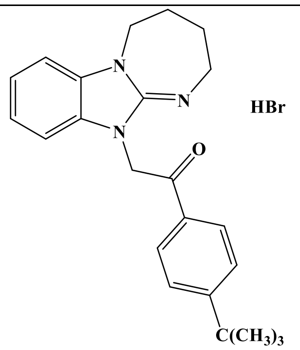
Общая формула				
 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид				
Номер	Шифр вещества	Структура	Название соединения	Название радикала в положении N^{11} тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазола
3	**ДАБ-40**		11-(3,4-дихлорбензил)-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазол гидрохлорид	3,4-дихлорбензил
4	**ДАБ-41**		11-(4-хлорбензил)-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазол гидрохлорид	4-хлорбензил
11-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазолы				
5	**ДАБ-43**		2-(2,3,4,5-тетрагидро-11H-бензимидазол[1,2-a][1,3]диазепин-11-ил)-N-(4-фторфенил)ацетамида гидрохлорид	4-фторфенил

Общая формула				
 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид				
Номер	Шифр вещества	Структура	Название соединения	Название радикала в положении N^{11} тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазола
6	**ДАБ-44**		2-(8,9-Диметил-2,3,4,5-тетрагидро-11H-бензимидазол[1,2-a][1,3]диазепин-11-ил)-N-(4-фторфенил)ацетамида гидрохлорид	4-фторфенил
11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола дигидрохлориды				
7	**ДАБ-21**		11-[2-(1-Пирролидил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазол дигидрохлорид	2-(1-пирролидил)этил

Общая формула				
 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид				
Номер	Шифр вещества	Структура	Название соединения	Название радикала в положении N^{11} тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*а*]бензимидазола
8	**ДАБ-34**		8,9-Диметил-11-[2-(1-морфолинил)этил]-2,3,4,5-тетрагидро-[1,3]диазепино[1,2-*а*]бензимидазол дигидрохлорид	2-(1-морфолинил)этил
11-Карбокси-(карбэтокси)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола				
9	**ДАБ-35**		2-(8,9-диметил-2,3,4,5-тетрагидро-11Н-[1,2-а] бензимидазол[1,3]диазепин-11-ил)] уксусная кислота	уксусная кислота
11-Фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола гидрогалогениды				

<table>
<tr><td colspan="5">Общая формула</td></tr>
<tr><td colspan="5">
11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид</td></tr>
<tr><td>Номер</td><td>Шифр вещества</td><td>Структура</td><td>Название соединения</td><td>Название радикала в положении N11 тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-a]бензимидазола</td></tr>
<tr><td>10</td><td>ДАБ-9</td><td></td><td>1-(4-Метоксифенил)-2-(2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-а]бензимидазол-11-ил)этанона гидробромид</td><td>4-Метоксифенил</td></tr>
<tr><td>11</td><td>ДАБ-10</td><td></td><td>1-(3,4-Дихлорфенил)-2-(2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-а]бензимидазол-11-ил)этанона гидробромид</td><td>3,4-Дихлорфенил</td></tr>
</table>

Общая формула				
 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид				
Номер	Шифр вещества	Структура	Название соединения	Название радикала в положении N^{11} тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазола
12	**ДАБ-16**		1-(4-Бромфенил)-2-(2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-а]бензимидазол-11-ил)этанона гидробромид	4-Бромфенил
13	**ДАБ-32**		8,9-Диметил-11- (4-фторфенацил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазол гидробромид	4-фторфенацил
14	**ДАБ-33**		2-(8,9-Диметил-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-а]бензимидазол-11-ил-1-(4-трет-	4-трет-бутилфенил

Общая формула				
 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид				
Номер	Шифр вещества	Структура	Название соединения	Название радикала в положении N^{11} тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-*a*]бензимидазола
			бутилфенил)этанона гидробромид	
15	**ДАБ-45**		1-(4-трет-бутилфенил)-2-(2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-а]бензимидазол-11-ил)этанона гидробромид	4-трет-бутилфенил

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

2.2. Методы исследования

2.2.1. Изучение анксиолитического действия в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт

Эксперимент проводился на 102 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25г., разделенных на группы по 6 животных в каждой. Метод основан на естественном предпочтении грызунами темных нор, а также на страхе нахождения на открытых площадках и падения с высоты (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012). Приподнятый крестообразный лабиринт (Ugo Basile, Cat. No. 40143 Elevated Plus-Maze, for mice) представляет собой установку, состоящую из крестообразно расходящихся от центральной площадки под прямым углом 4-х рукавов размерами 10×50 см, два из которых открыты, а два имеют светонепроницаемые стенки высотой 30 см. Для освещения светлой части использовалась лампа мощностью 300 люкс, размещенная в центральной части на высоте 25 см. Установка располагалась на высоте 40 см и была жестко зафиксирована, во избежание движений лабиринта. Исследуемые вещества вводили за 30 минут до начала теста. Животным опытных групп внутрижелудочно вводили вещества в эквимолярных дозах, либо диазепам (1 мг/кг). Контрольным группам вводили растворитель – дистиллированную воду. Животных помещали в середину площадки, хвостом к исследователю. В течение 5 минут регистрировали следующие показатели анксиолитической активности: латентный период времени до выхода в открытый рукав (сек), количество выходов в светлый рукав, суммарное время, проведенное в открытых рукавах лабиринте (сек), общее число переходов из рукава в рукав (с указанием переходов типов рукавов), количество свешиваний, реактивность принятия решения - время ухода из центра (сек), общее время нахождения в центре (сек), количество выглядываний из закрытого рукава, количество болюсов и уринаций.

2.2.2. Исследование анксиолитического действия в тесте «Темная-светлая камера»

Эксперимент проводился на 18 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой. Метод основан на естественном предпочтении грызунами темных нор, а также на страхе нахождения на открытых площадках (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012). Установка «Темно-светлая камера» (Ugo Basile, Cat. No. 47442/47443, Light/Dark Box) предназначена для изучения поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий) и позволяет оценить: предпочтение темноты/света; выраженность и динамику поведения «выглядывания»; привыкание. Используется для скрининга анксиолитиков (в сочетании с тестом «Приподнятый крестообразный лабиринт»). Аппарат состоит из двух отсеков (20 см × 20 см × 15 см), светлого и темного, разделенных непрозрачным переходом (4 см). Для освещения светлой части использовалась настольная лампа мощностью 300 люкс, размещенная над отсеком на высоте 25 см. В начале 5-минутного сеанса мыши были помещены в переход, обращенные головой в сторону темного отсека. Регистрировалось время нахождения в темной камере: данный показатель указывает на степень выраженности страха животного перед неизвестным местом. В опытах изучаемые вещества вводятся за 30 минут до начала теста. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольным группам мышей вводилась дистиллированная вода.

2.2.3. Оценка анксиолитического действия в тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel»

Эксперимент проводился на 18 беспородных белых крысах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой. Тест конфликтной ситуации по Vogel (Vogel J. R., Beer B., Clody D.E., 1971; Миронов А.Н. и др., 2012) является стандартной моделью для проверки потенциальных анксиолитических свойств изучаемых веществ при стандартном комнатном освещении (300 люкс). В этой процедуре питьевое поведение животных наказывается мягкими электрическими ударами, приводящими к значительному сокращению потребления воды у животных, находящихся на депривации (48 часов). Питьевые реакции затем восстанавливаются препаратами с анксиолитическими свойствами. Установка представляла из себя коробку (50 × 30 × 20 см) с решетчатым полом из нержавеющей стали (Ugo Basile, Cat. No. 45100 Set-up for Rat, Lickometer - Vogel Test). Бутылка воды с металлической питьевой трубкой была установлена снаружи коробки. Электрическое раздражение (Электрошок - 0,1 мА, 1 с) наносили непосредственно после первого подхода к поилке. Фиксировалось количество подходов к поилке в течение 10 минут. Животным опытной группы внутрижелудочно за 30 минут до начала теста вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

2.2.4. Изучение анксиолитического действия в тесте «Оценка тревожно-фобического состояния животных»

Эксперимент проводился на 18 беспородных белых крысах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой. В тесте оценка тревожно-фобического состояния животных (ТФС) (Лебедев А. А. и др., 2016; Шабанов П.Д. и др., 2016;) предполагается, что для оценки эмоциональности у животных необходимо учитывать их видоспецифическое реагирование на серию адекватных тест-стимулов, провоцирующих проявления основных эмоциональных состояний, таких как страх, тревожность и агрессия. Тесты данной методики исключают грубое инструментальное воздействие и не провоцируют возникновение сильных конкурентных мотиваций, легко воспроизводимы, а также данные, полученные в них, не требуют длительной обработки. Тест проводился при комнатном освещении – 300 люкс. Большинство параметров наблюдались с применением установки «Открытое поле». (Ugo Basile, 47100 Open-field). В данную методику входят основные ситуации, в которых крысы демонстрируют ответы, связанные с проявлением страха и тревоги: 1) столкновение с незнакомым неживым объектом или незнакомой ситуацией; 2) действие руки экспериментатора. При оценке ТФС у крыс учитывают следующие параметры в баллах (от 1 до 4): 1) в зависимости от времени: латентное время спуска с платформы (тест 1), латентное время прохождения через отверстие (тест 2), латентное время выхода из домика (тест 3), латентное время выхода из центра «Открытого поля» (тест 4); 2) в зависимости от реакции животного: пячение в открытом поле (тест 5), пячение на действие руки экспериментатора (тест 6), затаивание (тест 7), вокализация (тест 8), прижимание ушей (тест 9). Далее проводилось суммирование всех баллов по каждому тесту, затем осуществлялось сравнение и анализ между группами животных. Чем больше баллов в сумме, тем выше степень тревожности животного.

Животным опытной группы внутрижелудочно за 30 минут до начала теста вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

2.2.5. Исследование анксиолитического действия в тесте «Открытое поле»

Эксперимент проводился на 18 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой. Эксперименты в открытом поле (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012) позволяют оценить базальную активность животного и ее эволюцию в ответ на новизну или анксиогенную среду, а также в ответ на фармакологическое лечение, поражение или генетическую модификацию. Животные помещались в центр круглой установки с диаметром арены 44 см и высотой стенок 32 см (Ugo Basile, 47432 Open-field, 44 cm) при комнптном освещении – 300 люкс. В течение 5 минут наблюдения регистрировали горизонтальную и вертикальную двигательную, а также поисковую активности. Наблюдали за перемещением исследуемых животных и координацией их движений. В опытах изучаемые вещества вводятся за 30 минут до начала теста. Животным опытных групп внутрижелудочно вводили вещество в эквимолярной дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

2.2.6. Влияние исследуемых соединений на локомоторную активность

Эксперименты проводились на 156 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой. Животным опытной группы внутрижелудочно за 30 минут до начала теста вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

«Актометр»

Аппарат (Ugo Basile, Cat. No. 47420, Multiple Activity Cage) состоит из квадратной пластины (40 x 40 x 30 см) с регистрирующим движения металлическим полом (Воронина Т.А., Середенин С.Б., 2002). Животное помещалось в установку на 5 минут, после чего регистрировалось количество совершённых двигательных актов. При определении двигательной активности всех животных предварительно адаптировали к актометру для исключения ориентировочной компоненты двигательной активности.

«Вращающийся стержень»

Животных помещали в установку (Ugo Basile, Cat. No. 47650, Mouse Rota-Rod) на горизонтальный стержень диаметром 3 см, вращающийся с постоянной скоростью 10 оборотов в минуту (Воронина Т.А., Середенин С.Б., 2002). Регистрировали время удерживания животного на вращающемся стержне (максимально время наблюдения за одним животным 30 с), а также моторную функцию и степень нарушения координации животных.

«Проволока»

Для регистрации мышечного тонуса используют тест подтягивания на горизонтальной перекладине (Klein S. M. et al., 2012; Миронов А.Н. и др., 2012). Крыс или мышей подвешивают передними лапами на проволоку, натянутую на высоте 20–30 см от поверхности стола. Животные с ненарушенным мышечным тонусом быстро подтягиваются и удерживаются на перекладине четырьмя лапами. Невыполнение этого рефлекса животными свидетельствует о нарушении мышечного тонуса и неврологическом дефиците.

«Сетка»

Животное помещают на густую проволочную сетку (Klein S. M. et al., 2012; Миронов А.Н. и др., 2012), которую медленно поворачивают на 180°. Измеряют время нахождения животного под сеткой, которое должно быть не менее 15 секунд.

2.2.7. Оценка исследуемых соединений на поведенческую активность в тесте «Закапывание шариков»

Эксперимент проводился на 18 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой. Этот тест предложен как модель обсессивно-компульсивного расстройства, связанного с навязчивыми идеями и действиями (Шабанов П.Д. и др., 2017). Двадцать четыре стеклянных шарика (12,5 мм в диаметре, четыре ряда по шесть штук) были равномерно расположены на 5 см слое из опилочного материала в новой клетке (30×20×13 см). Предметы были помещены в клетку и исследовались животными в течение 30 минут при освещении в 70 люкс. Фиксировалось процентное соотношение закопанных шариков по сравнению с исходным количеством шариков, и, таким образом, оценивалась степень возникновения навязчивых состояний у исследуемых животных.

Животным опытной группы внутрижелудочно за 30 минут до начала теста вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

2.2.8. Влияние исследуемых соединений на поведенческую активность в тесте «Резидент-интрудер»

Эксперимент проводился на 18 крысах-самцах массой 180-200 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой при комнатной освещенности – 300 люкс. Тест «резидент — интрудер» (Шабанов П.Д. и др., 2017) использовали для анализа особенностей внутривидового поведения животных. Крысу-резидента помещали в обычную жилую индивидуальную клетку размером 20 × 25 × 17 см с опилками на полу, где она находилась в одиночестве в течение 1 ч, после чего к ней подсаживали взрослую крысу-чужака того же пола, но заведомо меньшего размера. В течение 5 минут регистрировали полную этограмму поведения резидента. Регистрацию производили путем последовательной записи каждого поведенческого акта или позы животного. «Внутривидовая общительность» включала в себя следование за партнером, обнюхивание партнера, обнюхивание его генитальной области, груминг тела партнера, наползание или подползание под него. «Агрессия» квалифицировалась как угроза в виде вертикальных или боковых стоек, атаки и укусов. «Защитное поведение» оценивали по избеганию партнера (убегание), защитной стойке (при угрозе или атаке чужака), позе подчинения «на спине». Индивидуальное, то есть не связанное с партнером, поведение включало в себя локомоцию, обнюхивание, движение на месте, аутогруминг, вертикальные стойки, фризинг, покой. Уровни агрессии, общительности и защиты оценивали по количеству элементов, образующих эти формы внутривидового поведения.

Животным опытной группы внутрижелудочно за 30 минут до начала теста вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

2.2.9. Изучение антидепрессивной активности в тесте «Принудительное плавание по Porsolt»

Эксперимент проводился на 30 мышах-самцах массой 22-25 г., и 30 крысах-самцах массой 180-200 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой, при комнатной освещенности 300 люкс. Тест был предложен с целью проверки формирования депрессивноподобного состояния (Porsolt, R.D., Le Pichon M., Jalfre M.L., 1977) у лабораторных животных. Оборудование представляет собой прозрачный цилиндр диаметром 10 см и высотой 30 см (Open Science, TS0801-M, Forced Swimming Test for mice; Open Science, TS0801-R30S, Forced Swimming Test for rats). При проведении теста оценивается время, когда животное от активных попыток найти выход из неприятного положения (погружение в воду и невозможности покинуть установку), переходит к неподвижности, «зависанию», которое исследователи ассоциируют с поведением отчаяния или так называемым «состоянием потери животным надежды - безысходность».

Животным опытных групп трехкратно (за 24 часа, 8 часов, 1 час до эксперимента) внутрижелудочно вводили исследуемые вещества в эквимолярной препарату сравнения дозе. Животным остальных групп трехкратно вводили препарат сравнения диазепам (1 мг/кг), либо амитриптилин (10 мг/кг) или имипрамин (8 мг/кг). Контрольным группам животных вводили дистиллированную воду в эквивалентном объеме. Регистрировали время активного плавания (любого движения животного, в попытке выбраться или держаться на воде) и время иммобильности (полного отсутствия движений – состояние безысходности).

2.2.10. Исследование антидепрессивной активности в тесте «Подвешивания за хвост»

Эксперимент проводился на 30 мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой при комнатном освещении – 300 люкс. Тест с подвешиванием за хвост (Steru L. et al., 1985) разрабатывался в качестве альтернативны тесту "Вынужденное плавание" Порсольта, и основан на схожих принципах. Мышь, помещается в установку (Panlab, LE808, Tail Suspension Test), подвешенная за хвост с помощью куска клейкой ленты (безболезненный метод), инстинктивно пытается освободиться из неприятной ситуации, после неудачных попыток сбежать, животные начинают демонстрировать поведение отчаяния - иммобилизацию. При этом считается, что выраженность отчаяния, определяемая неподвижностью, прямо зависит от депрессивных расстройств у испытуемых, и значительно снижается при приёме антидепрессантов. В опытах изучаемые вещества вводятся за 30 минут до начала теста. Животным опытных групп внутрижелудочно вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе. Животным остальных групп вводили препарат сравнения диазепам (1 мг/кг), либо амитриптилин (10 мг/кг) или имипрамин (8 мг/кг). Контрольной группе вводилась дистиллированная вода. Регистрировали время иммобилизации животных.

2.2.11. Оценка анальгетической активности соединений в тесте «Отдергивание хвоста»

Исследование анальгетической активности проводилось на 24 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой при комнатной освещенности – 300 люкс. Прибор «Tail flick» (Ugo Basil, Cat. No. 37360, Tail-Flick Unit) производит точное измерение болевого порога при воздействии инфракрасного теплового стимула. Животное помещают в специальный фиксатор, инфракрасное излучение фокусируется на хвосте животного специальным образом. При наступлении болевого порога животное отдергивает хвост, что улавливается датчиком. Автоматически записывается время реакции животного и интенсивность инфракрасного излучения. Критерием анальгетического эффекта считали статистически значимое увеличение латентного периода реакции после введения исследуемого вещества по отношению к интактным животным (D'Amour F.E., Smith D.L., 1941).

Животным опытной группы внутрижелудочно за 30 минут до начала теста вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг. Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

2.2.12. Изучение анальгетической активности соединений в тесте «Горячая пластина»

Исследование анальгетической активности проводилось на 24 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой, при комнатной освещенности – 300 люкс. Тест горячей пластины (Ugo Basil, Cat. No. 35150, Hot Plate) основан на поведенческих реакциях, контролируемых супраспинальными структурами, в ответ на болевое воздействие. При помещении животного на горячую поверхность (55°С) с достижением порога болевой реакции наблюдаются двигательное беспокойство: отдергивание лап, облизывание подушечек лап, подпрыгивание, которые характеризуются самой сложной организацией рефлекса с вовлечением корковых и подкорковых структур головного мозга. Данная экспериментальная модель позволяет не только оценить обезболивающее действие вещества, но и определить уровень вмешательства в нейромедиаторные процессы ЦНС (Kitchen I., Crowder M., 1985). Мышей помещали на термостатически контролируемую, электронагревательную поверхность, окруженную цилиндром диаметром 15 см с установленным температурным режимом. Регистрировали латентный период (ЛП) болевой реакции в виде облизывания задних лап. При отсутствии активности в течение 30-секундного интервала (максимальное время экспозиции) за ЛП принимались 30 секунд. Критерием анальгетического эффекта считали статистически значимое увеличение латентного периода реакции после введения исследуемого вещества по отношению к интактным животным. Животным опытной группы внутрижелудочно за 30 минут до начала теста вводили вещество в эквимолярной препарату сравнения дозе, либо диазепам в дозе 1,0 мг/кг или буторфанол (1 мг/кг). Контрольной группе вводилась дистиллированная вода.

2.2.13. Влияние флумазенила на анксиолитическое действие соединения ДАБ-21

Исследование проводилось на 30 беспородных белых мышах-самцах массой 22-25 г., разделенных на группы по 6 животных в каждой, при комнатной освещенности – 300 люкс. Животным однократно вводили препарат сравнения диазепам в дозе 1,0 мг/кг, исследуемое соединение в эквимолярной диазепаму дозе 1,26 мг/кг. Животным третьей и четвертой групп за 30 минут до введения диазепама и исследуемого соединения вводили антагонист бензодиазепиновых рецепторов – флумазенил (1,0 мг/кг). Контрольная группа животных получала физ. раствор внутрижелудочно в эквивалентном объеме. Методика проводилась аналогично описанной в пункте 2.2.1.

2.2.14. Влияние веществ на гиперкинез, вызванный введением 5-гидрокситриптофана

Методика основана на том, что метаболический предшественник серотонина 5-гидрокситриптофан (5-ГТФ) в дозах 200-300 мг/кг вызывает у мышей характерный гиперкинез в виде встряхивания головой. Механизм данного феномена связан с усилением серотонинергической нейропередачи в мозге путѐм стимуляции 5-HT_2-серотониновых рецепторов (Pranzetelli M.R. et al., 1989). Тестирование проводилось на 12 беспородных мышах-самцах, разделенных на 2 группы по 6 животных в каждой. Животным опытной группы внутрижелудочно вводилось соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, контрольным мышам производилась инъекция дистиллированной воды. Через 30 минут внутрибрюшинно вводился 5-ГТФ в дозе 300 мг/кг. После этого на протяжении 1 часа осуществлялся подсчет количества встряхиваний головой у мышей в течение 1 минуты с интервалом 10 минут. Влияние изучаемого соединения на регистрируемый показатель оценивалось в сравнении с контрольными показателями.

2.2.15. Изучение влияния веществ на ареколиновый тремор

Известно, что в опытах на животных центральные холиномиметики (ареколин, оксотреморин) вызывают развитие гиперкинеза, судорог, гипотермии и других эффектов, что позволяет использовать данный тест для выявления центрального М-холинергического действия веществ (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012). Тестирование проводилось на 12 беспородных мышах-самцах. Соединение ДАБ-21 вводили внутрижелудочно в дозах 1,26 мг/кг за 30 минут до введения центрального М-холиномиметика ареколина (15 мг/кг, внутрибрюшинно). Контрольная группа животных получала дистиллированную воду. При проведении теста регистрировали латентный период тремора и его длительность. О наличии у изучаемого соединения центрального Мхолиноблокирующего или М-холиномиметического действия судили по изменению измеряемых показателей в опытных группах по сравнению с контрольной.

2.2.16. Оценка влияния веществ на фенаминовую стереотипию

Метод основан на способности фенамина влиять на дофаминергическую трансмиссию, так, за счет усиления активности, указанной нейромедиаторной системы, возникает стереотипное поведение (Островская Р.У., Раевский К.С., Воронина Т.А., 2012). Эксперименты были выполнены на 12 крысах-самцах, разделенных на 2 группы по 6 животных в каждой. Соединение ДАБ-21 вводилось животным внутрижелудочно в дозе 1,26 мг/кг, контрольная группа получала дистиллированную воду. Спустя 30 минут животным вводился фенамин в дозе 5,0 мг/кг внутрибрюшинно. За животными велось наблюдение в течение всего периода наблюдаемого стереотипного поведения, вплоть до полного ее исчезновения. О выраженности влияния изучаемого соединения на данный феномен судили в сравнении с показателями контрольной группы.

2.2.17. Действие веществ на эффекты L-ДОФА

Данный тест применяется для выявления у изучаемого соединения МАО-ингибирующего действия. Тест основан на возможности L-ДОФА в высоких дозах (500 мг/кг) вызывать у животных стереотипные движения, при этом если одновременно использовать вещества, способные ингибировать моноаминоксидазу, эффекты, связанные с проявлением стереотипных движений, возможно наблюдать и при введении низких доз L-ДОФА (100мг/кг) (Андреева Н.И., 2005). Эксперимент был выполнен на 18 мышах-самцах, разделенных на 3 группы по 6 особей в каждой. Животным опытных групп внутрижелудочно вводилось соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, животным контрольных групп – дистиллированная вода. На 30 минуте после введения вещества и дистиллированной воды мышам контрольной группы №1 внутрибрюшинно вводился L-ДОФА в дозе 500 мг/кг, контрольной группе №2 и опытным группам – в дозе 100 мг/кг. В ходе эксперимента оценивали наличие и выраженность у животных стереотипии. Измерения проводили с интервалом в 30 минут в течение полутора часов после введения L-ДОФА. Каждое животное наблюдалось в течение 1 минуты, во время которой экспериментатор оценивал уровень проявляемой стереотипии, используя больную шкалу оценок: 0 баллов – отсутствие стереотипии; 1 балл – отдельные стереотипные движения, в том числе непостоянное принюхивание; 2 балла – непродолжительно длящаяся интенсивная стереотипия, в том числе лизание и грызение; 3 балла – постоянная и интенсивная стереотипия. О наличии МАО-ингибирующего действия у изучаемого вещества судили по изменению показателей в опытных группах в сравнении с контрольными.

2.2.18. Оценка влияния веществ на никотиновый тремор

Никотиновый тест позволяет изучить способность исследуемых соединений, воздействовать на N-холинрецепторы. Так, никотин в больших дозах (более 4 мг/кг) способен усиливать нервно-мышечную передачу. Такая способность никотина выражалась в возникновении тремора и судорог у испытуемых животных. При низких дозах вводимого никотина (до 2 мг/кг) возникновения судорог не наблюдается, что можно использовать для определения влияния изучаемого вещества на эффекты N-холиномиметика (Андреева Н.И., 2005). Эксперименты были выполнены на 24 мышах-самцах, разделенных на 4 группы по 6 животных в каждой. Контрольные группы животных получали дистиллированную воду, опытные группы – соединение ДАБ-21 внутрижелудочно в дозах 1,26 мг/кг. Спустя 30 минут животным внутрибрюшинно вводился Н-холиномиметик - никотин по следующей схеме: контрольной группе №1 в дозе 2 мг/кг, контрольной группе №2 – 4 мг/кг, опытным группам – 2 мг/кг. В ходе наблюдения за животными регистрировали латентный период развития тремора, отмечали наличие судорожных приступов и их латентность. О влиянии на Н-холинорецепторы судили по изменению показателей в опытных группах в сравнении с контрольными.

2.2.19. Исследование действия веществ на эффекты апоморфина

Апоморфин в малых (0,01-0,15 мг/кг) дозах вызывает стереотипные движения у крыс. Такой эффект, как предполагается, связан с пресинаптическими дофаминовыми рецепторами и непосредственной их активацией (Островская Р.У., Раевский К.С., Воронина Т.А., 2012). Это дает возможность использовать данный эффект при анализе пресинаптического влияния веществ на дофаминовые рецепторы. Эксперименты были выполнены на 12 крысах-самцах, разделенных на 2 группы по 6 животных в каждой. Соединение ДАБ-21 вводилось животным внутрижелудочно в дозах 1,26 мг/кг, контрольная группа получала дистиллированный растрвор. Спустя 30 минут животным вводился апоморфин (0,1 мг/кг, подкожно). Через 30, 60, 90 и 120 минут у животных оценивалась выраженность стереотипных движений. Для оценки использовалась балльная шкала: 0 баллов – отсутствие стереотипии; 1 балл – отдельные стереотипные движения, в том числе единичные случаи зевательных движений, непостоянное принюхивание; 2 балла – непродолжительно длящаяся интенсивная стереотипия, в том числе зевание, лизание и грызение; 3 балла – постоянная и интенсивная стереотипия. О выраженности влияния изучаемого соединения на данный феномен судили в сравнении с показателями контрольной группы.

2.2.20. Влияние веществ на каталептогенный эффект галоперидола

В данном тесте исследовалась способность вещества оказывать влияние на дофаминовые рецепторы 2 типа, локализованные в центральной нервной системе, блокируя их. Это выражалось в угнетении двигательной активности и ориентировочных реакций, а также в возможном возникновении каталепсии. Проявление такой симптоматики является характерной чертой для типичных 54 нейролептиков (Андреева Н.И., 2005). Тестирование проводилось на 12 крысах-самцах, разделенных на 2 группы по 6 животных в каждой. Соединение ДАБ-21 вводили внутрижелудочно в дозах 1,26 мг/кг, контрольной группе вводился изотонический раствор хлорида натрия. Через 1 час производилась инъекция галоперидола (3 мг/кг, внутрибрюшинно) и велось наблюдение за животными. Развившуюся каталепсию оценивали по способности сохранять заданную непривычную позу в течение 15 секунд через 15, 30, 45, 60 и 120 минут после введения галоперидола по балльной шкале C. Morpugo (1962): 1 балл – передняя лапа слегка отводится и помещается на подставку высотой 3 см; 2 балла – крыса стоит на задних лапах, одна передняя помещена на подставку высотой 10 см; 3 балла – крыса стоит на передних лапах, одна задняя лапа помещена на подставку высотой 10 см. О наличии дофаминергического влияния судили по изменению выраженности каталептогенной реакции в опытных группах по отношению к контролю.

2.2.21. Тест взаимодействия с клофелином

Для выявления возможного фармакологического взаимодействия с клофелином изучалась способность соединений изменять α2-обусловленное гипотермическое действие последнего согласно рекомендациям по проведению доклинических исследований (Андреева Н.И., 2005). Исследование выполняли на 18 крысах-самцах, разделенных на 3 группы интактного контроля 1, группу контроля 2, получавшую клофелин (0,1 мг/кг, внутрибрюшинно) и опытные группы (изучаемое соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг и клофелин). Термометрию (термометр «OMRON») животных осуществляли ректально каждые 30 мин в течение 2 часов. О взаимодействии соединений с клофелином судили по изменению эффектов относительно групп контроля.

2.2.22. Влияние на судорожный эффект пикротоксина

В используемом методе изучается способность пикротоксина вызывать тремор и повторяющиеся клонические судороги. Такой эффект связан с его антагонистическим влиянием в отношении ГАМК - рецепторов (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012). Исследование проводилось на 12 мышах самцах, разделенных на 2 группы по 6 животных в каждой. Соединение ДАБ-21 изучалось внутрижелудочно в дозах 1, 26 мг/кг, контрольной группе - изотонический раствор хлорида натрия. Все растворы вводились за 30 минут до введения пикротоксина в дозе 2,5 мг/кг (инъкция производилась интраперитонеально). После этого в течение 1 часа вели наблюдение за животными, отмечая латентный период появления тремора, латентный период развития судорог и количество судорожных приступов. Изменение регистрируемых показателей в опытных группах оценивали в сравнении с контрольными показателями.

2.2.23. Оценка влияния веществ на эффекты резерпина

В основе теста лежит способность резерпина оказывать симпатолитическое действие, вызывая при этом общую гипотермию, блефароптоз и др. (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012). Опыты проведены на 18 мышах-самцах, разделенных на 2 контрольные и 1 опытную группы. Каждая группа состояла из 6 животных. Контрольная группа №1 не подвергалась действию резерпина и использовалась как интактный контроль, животным остальных групп внутрибрюшинно вводился резерпин в дозе 2,5 мг/кг. Развитие гипотермических эффектов резерпина длилось в течение 3 часов, после чего животным контрольных групп внутрижелудочно вводилась дистиллированная вода, животным опытных групп – соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг. Через 60 и 90 минут после введения веществ (4 часа и 4 часа 30 минут после введения резерпина) оценивали развитие у крыс гипотермии. Измерение ректальной температуры проводили электронным термометром («OMRON», Германия). О действии изучаемых веществ судили по изменению наблюдаемых реакций в опытной группе по сравнению с контрольными показателями.

2.2.24. Изучение острой токсичности и определение показателя LD_{50}

Острую токсичность определяли в соответствии методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств (Арзамасцев Е.В., Березовская И.В., Верстакова О.Л., 2012). Исследование токсичности соединения ДАБ-21 проводили на 54 белых нелинейных мышах–самцах массой 22-30 г. (ООО «Питомник РАМТН», ветеринарное свидетельство 202 № 0128531 от 19.12.2012) при однократном внутрижелудочном введении. Оценка общего состояния и поведения животных проводилась по: характеру двигательной активности, координации движений, наличию судорог и их типу, тремора. По истечению 14 суток проводися подсчет процента павших и выживших животных. Расчет токсикологического показателя - LD_{50} – проводили по методу Личфилда-Вилкоксона (Беленький М.Л., 1963).

2.2.25. Изучение нейротоксических эффектов соединений с использованием многопараметрового теста по S.Irwin

Эксперименты проводили на половозрелых мышах-самцах, массой от 18 до 30 г, в количестве 30 особей, из которых было сформировано 5 экспериментальных групп – 1 контрольная и 4 опытных. Вещество ДАБ-21 вводили мышам внутрижелудочно (металлическим зондом) в ранее изученной средней эффективной дозе – 1,26 мг/кг, а также в дозах, превышающих таковую – 25 мг/кг, 63 мг/кг и 126 мг/кг. Исследование нейротоксикологического профиля соединения ДАБ-21 проводилось по методу «S.Irvin» (Roux S., Sablé E., Porsolt R.D., 2004) в модификации НИИ фармакологии ВолгГМУ (Бугаева Л.И., Веровский В.Е., Иежица И.Н., 2000). Под действием вещества у животных оценивали спектр изменений поведенческих реакций (настороженность, пассивность, агрессия, беспокойство, спонтанная двигательная активность), нервно-мышечных (судороги, парезы, тремор, реакции на раздражители) и вегетотропных эффектов (размер зрачка, птоз верхнего века, уринации, дефекации, саливации, цвет кожи, частота дыхания, температура тела). Оценка параметра в норме приравнивалась к 4 баллам, а изменение параметра в среднем на 25% соответствовала изменению в 1 балл. Возрастание внешне наблюдаемых изменений по шкале от 4 до 8 баллов указывало на увеличение эффекта, а снижение – от 4 до 0 – на его угнетение. В шкале оценок токсического профиля препарата для признаков, в норме отсутствующих или в незначительной степени имеющих место, активность выражалась от 0 до 8 баллов (0 – отсутствие эффекта). Прогнозировали доклиническую степень безопасности и обозначали минимальную токсическую дозу (ТДмин).

2.2.26. Изучение аддикции в тесте «Условная реакция предпочтения места»

Эксперименты проводили на половозрелых мышах-самцах, массой от 18 до 22 г, в количестве 18 особей, из которых было сформировано 3 экспериментальных группы – 1 контрольная и 2 опытных. Суть этой методики заключается в том, что после того, как инъекции аддиктивного вещества несколько раз осуществляют в определенной обстановке, животные больше времени стараются проводить в месте, ассоциированном с действием наркотика (Миронов А.Н. и др., 2012). Для обучения использовали 2-х секционную камеру. Две одинаковых по размеру камеры предпочтения с разным цветом пола (белый и черный). Камеры отделены друг от друга раздвижными дверцами. 1 день эксперимента: мыши помещены в произвольную камеру на 1 мин (период привыкания — двери закрыты) и на 20 мин (период свободного исследования двери открыты). Определяют предпочтение мышей белой или черной камеры. 2–9 - дни эксперимента. Мышам вводили вещество ДАБ-21 или растворитель (в равновероятностной последовательности 1 раз в день) и помещали в соответствующую камеру. Т.е. одну мышь после введения вещества помещают в отсек с черным полом, а после введения растворителя — в отсек с белым полом; 10 день - тестирование. После введения вещества ДАБ-21 мышей помещают в установку с открытыми дверцами. Регистрируют время проведения в каждой камере. Критерием наличия у вещества подкрепляющих свойств считают достоверно большее проведение времени в камере, ассоцицрованной с введением вещества.

2.2.27. Статистическая обработка данных

Проводили с использованием пакета программы «GraphPad.Prism.5.0» (США). Проверку выборки на нормальность осуществляли с помощью теста Колмогорова-Смирнова. Сравнение двух зависимых выборок проводили непараметрическим парным тестом Вилкоксона. Сравнение двух независимых выборок осуществляли с использованием непараметрического парного теста (U-критерий Манна–Уитни). Сравнение трех и более независимых выборок проводили параметрическими (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с посттестом Данна) и непараметрическими (критерий Краскела-Уоллиса с посттестом Данна) методами. Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне $p < 0{,}05$.

ГЛАВА 3. ПОИСК НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДИАЗЕПИНО[1,2-α]-БЕНЗИМИДАЗОЛА С АНКСИОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Изучаемые соединения - производные - 11-замещенные-2,3,4,5 – тетрагидро [1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазола – новая группа химических веществ, чья базовая структура содержит фрагменты двух привилегированных подклассов - диазепинового и бензимидазольного. Транквилизирующая активность данных групп - производных диазепина (диазепам, феназепам, альпразолам) и производных бензимидазола (афобазол) детально освещена в научной литературе (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014; Voronin M. V., Kadnikov I.A., 2016; Kalinina T. S. et al. 2016; Burchinskii S. G., 2018). Представители данных классов веществ широко применяются в клинической практике. В связи с этим исследуемые производные диазепино[1,2-α]-бензимидазола представляют большой интерес при поиске и изучении веществ с нейропсихотропным действием. В результате химического объединения в базовой структуре двух различных классов соединений (как по механизму действия, так и по проявлению основного эффекта) с доказанной транквилизирующей активностью, можно сделать предположение о наличии высокого анксиолитического потенциала данных веществ, который теоретически будет осуществляться посредством активации нескольких мишеней, что предполагает политаргетный механизм действия соединений. В связи с этим, производные диазепино[1,2-α]-бензимидазола могут являться более эффективными веществами при терапии широкого спектра психопатологических состояний, так как этиология большого количества данных заболеваний связана с нарушением нескольких систем организма, что усложняет терапию данных состояний.

3.1. Изучение анксиолитической активности производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола

Модель приподнятого крестообразного лабиринта была выбрана как базовая для поиска веществ, проявляющих противотревожную активность. Данная установка широко используется в научной практике так как имеет большое количество информативных показателей, анализируя которые как по отдельности, так и между собой, можно получить обширную первичную картину изучаемого вида активности.

3.1.1. Исследование анксиолитической активности производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Было исследовано 15 веществ. Полученные данные приведены в таблицах 3.1.1 и 3.1.2 Изучаемые вещества проявляют различный уровень антифобического действия. Соединения ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-32, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40 при введении исследуемым животным не вызывали статистически значимых различий с показателями контрольной группы практически по всем регистрируемым параметрам. По показателю количества переходов между рукавами установки исследуемые животные предпочитали оставаться в темных отсеках, что может являться следствивем развития седации у животных, и отсутствием выраженного анксиолитического эффекта изучаемых соединений. Животные, которым вводили данные соединения, практически не выходили в светлые рукава установки и не проявляли исследовательского интереса по отношению к разным отсекам установки. Учитывая время, проведенное в светлых рукавах, показатели, регистрируемые у животных, которым вводили данные соединения, не превышали значения контрольной группы, эффекты от соединений ДАБ-32, ДАБ-34 и ДАБ-35 оказались ниже контроля. Общее количество переходов у животных под действием соединений ДАБ-9, ДАБ-16, ДАБ-32, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-44 превосходило показатель контрольной группы, но данные показатели были выше контроля в результате большого количества переходов животных между темными рукавами установки, что может являться признаком отсутствия развития миорелаксирующего эффекта. Показатели количества свешиваний животных, которым вводили соединения ДАБ-34, ДАБ-39 и ДАБ-43 были статистически ниже, чем показатели группы контроля, это может свидетельствовать об отсутствии развития анксиолитического действия, данное предположение также подтверждается большим количеством болюсов и уринаций исследуемых животных этих трех групп, это является показателем стрессированности мышей. Полученные значения количества выглядываний животных, которым вводили соединения ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-32, ДАБ-39, ДАБ-40 были на уровне показателя контрольной группы, что так же может являться фактором повышенной тревожности у мышей и отсутствием развития анксиолитического эффекта. Животные длительное время не выходили в центральную часть установки из замкнутого пространства закрытых рукавов установки.

У животных, которым вводили ДАБ-43 и ДАБ-45, была зарегистрирована длительность пребывания в светлом отсеке, уступающая препарату сравнения диазепаму, но превышающая контроль в 2,5 и 3,7 раза соответственно ($p \leq 0,05$). Количество переходов мышей под действием соединений ДАБ-43 и ДАБ-45 превышало контроль в 4,2 и 5,6 раз соответственно ($p \leq 0,05$), и соответствовало показателю группы диазепама. Для соединения ДАБ-45 было характерно увеличение количества выходов в светлые рукава как по отношению к контролю в 8,6 раза ($p \leq 0,05$), так и в сравнении с диазепамом на 23 % ($p \leq 0,05$). По количеству переходов из светлого рукава в светлый животные опытной группы показали результат, превосходящий группы контроля и диазепама в 13,5 и 1,6 раза соотвтетственно. При регистрации общего времени нахождения в светлом рукаве, соединение ДАБ-45 превосходило контроль в 3,7 раза, и соответствовало показателю диазепама ($p \leq 0,05$). Было установлено, что показатель времени нахождения в светлом рукаве животных под действием вещества ДАБ-41 соответствует данному показателю группы препарата сравнения. По совокупности наблюдаемых изменений в поведении мышей после введения соединений ДАБ-41 и ДАБ-45 (в том числе количества свешиваний и болюсов), можно сделать вывод об умеренном анксиолитическом действии веществ.

Соединение ДАБ-21 показало выраженный анксиолитический эффект, превосходящий как группу контроля, так и группу препарата сравнения, а также противотревожный эффект афобазола, практически по всем регистрируемым параметрам теста. Так, показатель общего количества переходов опытной группы превосходил контроль и группу диазепама в 5,2 и 1,2 раза соответственно, а показатель афобазола в 1,4 раза ($p \leq 0,05$). Количество переходов из светлого рукава в светлый группы соединения ДАБ-21 превосходило показатель группы контроля в 9 раз, значение группы афобазола на 20% и соответствовал таковому группы диазепама ($p \leq 0,05$). Показатель количества переходов из светлого рукава в темный животных, которым вводили ДАБ-21 был выше показателей контрольной группы и препарата сравнения в 6,7 и 1,4 раза соответственно, а группы афобазола в 1,7 раз ($p \leq 0,05$). Показатель общего количества выходов в открытый рукав установки животных, под действием ДАБ-21 превышает таковые контроля, диазепама и афобазола в 8,4; 1,2 и 1,3 раза соответственно ($p \leq 0,05$). Животные, которым вводили соединение ДАБ-21, находились в светлом рукаве установки более длительное время, так, показатель времени нахождения в открытом рукаве данной группы выше контрольной и группы диазепама в 5,7 и 1,2 раза соответственно, и превышает данный показатель афобазола в 1,7 раза ($p \leq 0,05$). Исследуемые животные под действием соединения ДАБ-21 активно изучали локации установки на протяжении всего времени эксперимента, не боялись выходить в светлые отсеки, подходить к открытым краям установки (свешивания), длительное время находились в центральной и открытой частях модели и принимали вертикальные стойки в данных отсеках.

Таким образом соединения, не проявляющие анксиолитического эффекта - ДАБ-32 и ДАБ-34, под действием которых животные находились в светлом рукаве в среднем 11 секунд, к тому же, данные животные практически не выходили в открытые части установки, показатели выглядываний, уринаций и болюсов обеих групп превышают или соответствуют таковым контрольной группы, что может свидетельствовать о повышенной стрессируемости или развитии тревожности.

Наиболее активными соединениями являются ДАБ-21, ДАБ-41 и ДАБ-45. Животные под действием данных соединений показали результаты соответствующие или превышающие таковые контрольной группы и группы препарата сравнения по всем или многим изучаемым параметрам теста. Наиболее выраженную анксиолитическую активность проявляет соединение ДАБ-21, статистически превосходя показатели группы препарата сравнения диазепама.

Таблица 3.1.1. – Влияние производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола (в дозах эквимолярных препарату сравнения диазепаму 1мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (M±m)

Тестируемые образцы	Количество переходов (общее)	Количество переходов из светлого рукава в светлый	Количество переходов из светлого рукава в темный	Количество переходов из темного рукава в темный	Время нахождения в открытом рукаве (с)	Количество выходов в открытый рукав.
Контроль	2,2±0,65	0,2±0,17	0,7±0,42	1,3±0,21	19,8±12,6	0,5±0,34
Диазепам (1мг/кг)	9,7±0,67*	1,7±0,21*	3,3±0,33*	4,7±0,42*	90,2±9,82*	3,5±0,22*
Афобазол (5 мг/кг)	8,2±0,31*	1,5±0,22	2,8±0,31	3,8±0,31	67,5±4,29*	3,2±0,31*
ДАБ-9	5,7±1,05	0,5±0,22	1,3±0,42	3,8±0,75	22,7±7,45	1,2±0,40
ДАБ-10	4,8±1,56	1,5±0,62	1,8±0,75	1,5±0,34	21,3±9,03	2,5±0,92
ДАБ-16	6,0±0,93	0,5±0,22	1,8±0,48	3,7±0,49	28,7±8,37	1,7± 0,42
ДАБ-21	11,5±0,96*	1,8±0,31*	4,7±0,49*	5,0±0,45*	112,0±6,65*	4,2±0,54*
ДАБ-32	4,8±0,79	0,0±0,01	0,8±0,31	4,0±0,68	10,8±3,79	0,7±0,21
ДАБ-33	4,3±0,76	0,0±0,01	1,0±0,37	3,3±0,49	23,7±8,64	0,7±0,21
ДАБ-34	5,3±0,96	0,0±0,01	0,7±0,42	4,7±0,88*	12,2±7,83	0,3±0,21
ДАБ-35	5,2±0,54	0,3±0,21	0,7±0,33	4,2±0,48	15,8±7,70	0,8±0,40
ДАБ-36	6,3±1,45	0,5±0,34	1,8±0,65	4,0±0,73	21,8±7,56	1,5±0,67
ДАБ-39	6,3±0,88	0,7±0,33	1,5±0,43	4,2±0,40	21,5±4,36	1,7±0,42
ДАБ-40	6,0±0,89	0,8±0,31	1,3±0,42	3,8±0,95	24,2±9,13	1,5±0,50
ДАБ-41	6,5±0,62	0,7±0,42	1,5±0,22	4,3±0,49	82,0±6,50*	1,7±0,42
ДАБ-43	9,2±0,60*	1,7±0,33	1,8±0,17	5,7±0,33*	50,3±4,84	2,7±0,33
ДАБ-44	9,7±0,67*	1,2±0,31	2,3±0,56	6,2±0,31*	28,7±2,91	2,5±0,22*
ДАБ-45	12,2±48*	2,7±0,42*	3,3±0,49*	6,2±0,48*	73,2±9,16*	4,3±0,33*

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

Таблица 3.1.2. – Влияние производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола (в дозах эквимолярных препарату сравнения диазепаму 1мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на поведение мышей в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» (M±m)

Тестируемые образцы	Количество свешиваний	Количество выглядываний	Количество груминга (короткий)	Количество Болюсов	Количество Уринаций
Контроль	1,2±0,60	5,7±0,76	3,3±0,33	2,3±0,33	0,8±0,17
Диазепам (1мг/кг)	6,2±0,60*	0,7±0,33*	0,2±0,17*	0,2±0,17*	0,0±0,01*
Афобазол (5 мг/кг)	5,7±0,76*	1,2±0,17*	0,2±0,17*	0,33±0,21*	0,2±0,17
ДАБ-9	2,2±0,40	8,3±0,80	4,3±0,72	0,7±0,21	0,2±0,17
ДАБ-10	2,5±0,56	7,0±0,82	4,3±0,98	0,2±0,17*	0,2±0,17
ДАБ-16	2,3±0,42	2,5±0,43	0,2±0,17*	0,0±0,01*	0,0±0,01*
ДАБ-21	6,0±0,63*	0,7±0,33*	0,0±0,01*	0,0±0,01*	0,0±0,01*
ДАБ-32	2,2±0,48	8,7±0,21	2,5±0,22	2,5±0,22	0,7±0,21
ДАБ-33	2,2±0,75	0,7±0,42*	0,2±0,17*	0,0±0,01*	0,0±0,01*
ДАБ-34	0,3±0,21	2,5±0,43	3,2±0,31	2,5±0,22	0,3±0,21
ДАБ-35	2,3±0,42	1,3±0,56	2,7±0,42	0,0±0,01*	0,0±0,01*
ДАБ-36	4,0±0,45	1,3±0,56	0,2±0,17*	0,2±0,17*	0,0±0,01*
ДАБ-39	0,3±0,21	7,3±0,76	3,7±0,42	1,7±0,21	0,7±0,21
ДАБ-40	2,3±0,42	7,3±1,26	0,2±0,17*	0,2±0,17*	0,0±0,01*
ДАБ-41	5,2±0,60*	2,5±0,43	0,0±0,01*	0,2±0,17*	0,0±0,01*
ДАБ-43	0,3±0,21	1,3±0,56	4,2±0,40	1,8±0,40	0,7±0,21
ДАБ-44	4,0±0,45	2,5±0,43*	2,0±0,45	0,2±0,17*	0,0±0,01*
ДАБ-45	4,0±0,45	2,5±0,43*	0,0±0,01*	0,0±0,01*	0,0±0,01*

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

3.1.2. Зависимость анксиолитической активности производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола от химической структуры

Сопоставляя полученные данные со структурой исследуемых соединений (Таблица 3.2.), наблюдается определенная зависимость эффекта от структуры новых веществ (Рисунок 1 - Рисунок 4).

Животные, которым вводили соединение ДАБ-34, содержащее в своей структуре морфолиноэтильный радикал, практически не выходили в светлые отсеки установки, количество свешиваний данной группы так же было на низком уровне, из чего можно сделать вывод о том, что морфолиноэтильный радикал, находящийся в N^{11} положении базовой структуры диазепино[1,2-α]-бензимидазола не способствует развитию противотревожной активности. Возможно в результате не подходящей конформации молекулы и дальнейшей невозможности докинга с биологической мишенью для возникновения необходимого эффекта, либо химической природе самого радикала, которому не свойственна противотревожная активность.

Соединение ДАБ-9 имеет в своей структуре 4-метоксифенацильный радикал. Исходя из низкого анксиолитического эффекта соединения можно говорить об отсутствии зависимости между противотревожным эффектом и наличии данного радикала в структуре. Так, животные, под действием данного соединения большую часть времени находились в темных рукавах установки, практически не выходя в светлые отсеки. Так же количество свешиваний животных данной группы было на уровне контроля, а количество выглядываний, как показатель стрессируемости животных, превышал показатели контроля и препарата сравнения, из чего можно предположить об отсутствии анксиолитической активности изучаемого вещества. В структуре соединения ДАБ-10 присутствует 3,4-дихлорфенильный радикал который, также не способствовал развитию анксиолитического эффекта. Время нахождения животных в светлых рукавах установки под действием ДАБ-10 соответствовало данному параметру группы контроля, к тому же, животные под действием ДАБ-10 совершали большое количество выглядываний. Аналогичный по структуре к данному радикалу так же относится радикал ДАБ-16, но в отличие от молекул хлора, содержит одну молекулу брома (4-бромфенил) и также не показал выраженного анксиолитического действия. При исследовании ДАБ-32, имеющего в структуре 4-фторфенацильный радикал регистрировалась низкая противотревожная активность, животные совершали большое количество выглядываний, превосходящее контроль, к тому же регистрировалось большое количество болюсов и уринаций, что может являться следствием повышенной тревожности исследуемых животных. Соединение ДАБ-33, имеющее в своей структуре 4-трет-бутилфенильный радикал, а также метильные радикалы в C^8 и C^9 положениях, не способствовало развитию выраженной анксиолитической активности у животных. Мыши предпочитали не выходить из темного отсека и практически все время эксперимента оставались в закрытых рукавах, что можно расценить как развитие тревоги. Интересно зметить, что соединение ДАБ-45, оказывающее умеренное антифобическое действие, также содержит в своей структуре 4-трет-бутилфенильный радикал, но без метильных радикалов в положениях C^8 и C^9. Из чего можно предположить о неблагоприятном влиянии данных заместителей в положениях C^8 и C^9 в структуре новых производных диазепинобензимидазола на развитие противотревожного эффекта. Данная структура является наиболее выгодной в ряду производных 11-Фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола для проявления антитревожного эффекта, так как животные под действием вещества длительное время находятся в светлых отсеках установки, совершают большое количество переходов между рукавами лабиринта и свешиваний. Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что присутствие в N^{11} положении базовой структуры диазепино[1,2-α]-бензимидазола, а именно 11-Фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола, таких радикалов, как 4-метоксифенил (ДАБ-9), 3,4-дихлорфенил (ДАБ-10), 4-бромфенил (ДАБ-16), 4-фторфенацил совместно с метильными радикалами в положениях C^8 и C^9 (ДАБ-32) и 4-трет-бутилфенил совместно с метильными радикалами в положениях C^8 и C^9 (ДАБ-33) не способствует развитию выраженного анксиолитического действия. Стоит обратить внимание, что соединение ДАБ-45, содержащее в своей структуре только 4-трет-бутилфенильный радикал в положении N^{11} без дополнительных радикалов проявляет умеренную анксиолитическую активность, из чего можно сделать вывод о перспективности работы с соединениями данного ряда веществ после их химической модификации.

Соединение ДАБ-35, имеющее в N^{11} положении остаток уксусной кислоты показало низкую противотревожную активность. Животные, которым вводили соединение предпочитали оставаться в темных отсеках и не совершали большое количество переходов или выглядываний. Возможно, расположение радикала или его химические свойства препятствуют развитию противотревожного действия. Следовательно, соединение ДАБ-35, производное 11-Карбокси-(карбэтокси)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола, имеющее в своей структуре в положении N^{11} уксусную кислоту не способствует развитию выраженного анксиолитического эффекта.

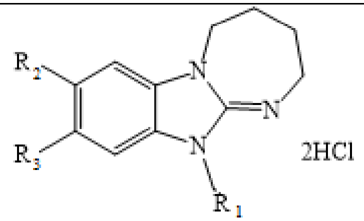
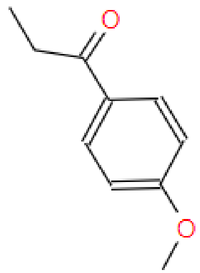
У животных, под действием вещества ДАБ-36, который содержит 4-хлорбензильный радикал в положении N^{11}, был повышен показатель количества свешиваний относительно контроля, так же было зарегестрировано незначительное увеличение выходов в открытый рукав, по остальным регистрируемым параметрам статистически значимых отличий выявлено не было. Другими схожими веществами с аналогичной активностью были соединения ДАБ-39 и ДАБ-40, имеющие в своей структуре -3,4 – дихлорбензильные радикалы, и различающиеся наличием у соединения ДАБ-39 двух метильных радикалов в положении C^8 и C^9 базовой структуры.

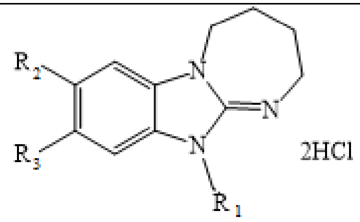
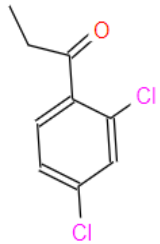
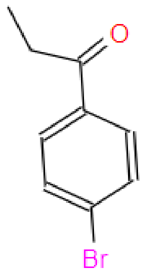
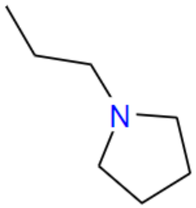
Соединение ДАБ-41, в структуре которого находится -4 – хлорбензильный радикал в N^{11} положении, проявляет умеренную анксиолитическую активность. Время, проведенное животными под действием ДАБ-41, соответствует времени препарата сравнения, количество свешиваний также схоже с группой диазепама, что может свидетельствовать о перспективности дальнейшего изучения производных 11-Алкил- и Бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола.

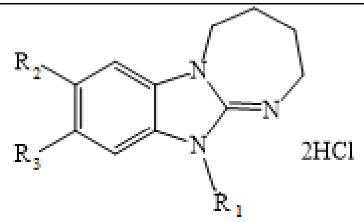
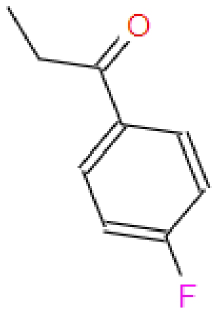
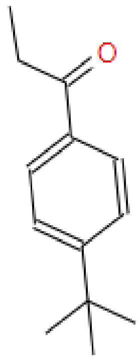
Соединение ДАБ-44, содержащее в своей структуре 4-фторфенильный радикал и метильные радикалы в положениях C^8 и C^9, проявило низкое антифобическое действие, выражающееся в коротком времени пребывания в светлом отсеке установки и большим количеством переходов из темного в темный рукава. Наличие 4-фторфенильного фрагмента в N^{11} положении базовой структуры производного диазепино[1,2-α]-бензимидазола ДАБ-43 увеличивает время нахождения животных в светлых отсеках, а также количество выходов в светлые рукава относительно контроля, но не превышает показатели препарата сравнения диазепама. К тому же, группа животных, принимавших ДАБ-43, показала низкое количество свешиваний. В совокупности всех исследуемых параметров можно сделать вывод об умеренной анксиолитической активности вещества. Стоит так же обратить внимание на тот факт, что отсутствие метильных радикалов в положениях C^8 и C^9 при 4-фторфенильном радикале в положении N^{11} благоприятным образом отразилось на изменении анксиолитической активности в сторону ее повышения, из чего можно сделать вывод о перспективности работы с соединениями данного ряда веществ после их химической модификации.

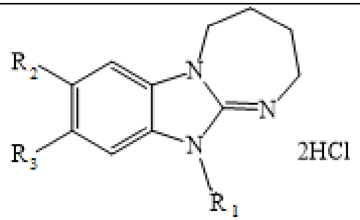
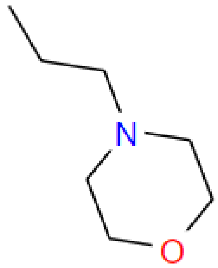
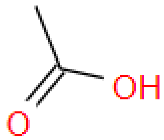
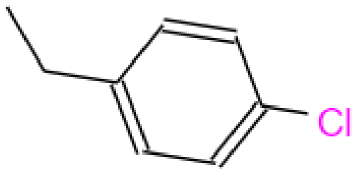
При рассмотрении химической структуры соединения ДАБ-21, являющегося производным 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола, показавшего выраженный антифобический потенциал и содержащего в положении N^{11} 2-пирролидиноэтильный радикал (Таблица 3.2), можно сделать предположение о том, что присутствие в этом радикале, у атома азота насыщенного гетероцикла является отрицательным фактором для развития анксиолитического эффекта лишь тогда, когда этот цикл имеет сильно неплоскую геометрию, что характерно именно для шестичленных циклов (ДАБ-34), но не для пятичленного пирролидина (ДАБ-21). Возможно именно из-за этого фактора данное соединение проявляет наибольшую анксиолитическую активность, превосходящую показатели препарата сравнения.

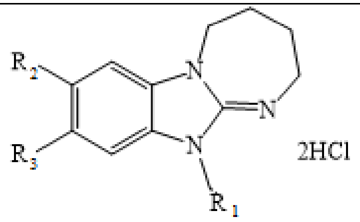
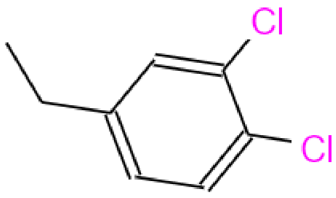
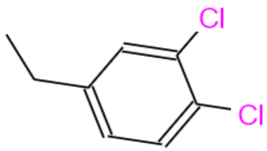
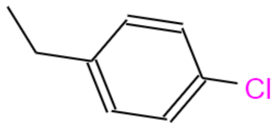
Таблица 3.2 – Химические структуры изучаемых производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола (в дозах, эквимолярных препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и их влияние на показатели времени нахождения в открытом рукаве и количестве выходов в открытый рукав в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» в сравнении с диазепамом (в дозе 1мг/кг, внутрижелудочное введение) (M±m)

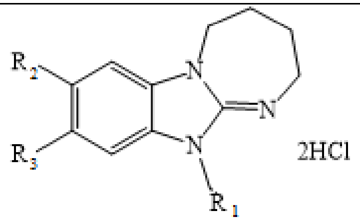
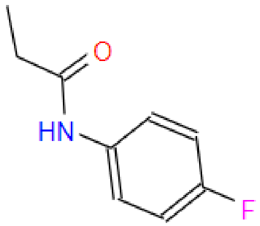
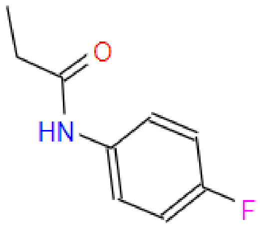
№	Тестируемые образцы	 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид			Время нахождения в открытом рукаве (сек.)	Количество выходов в открытый рукав
		Заместители				
		R1	R2	R3		
1	ДАБ-9	 4-метоксифенацил	H	H	22,7±7,45	1,2±0,40

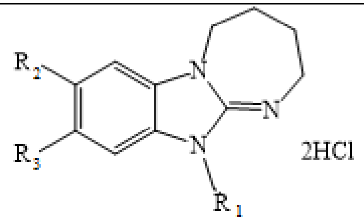
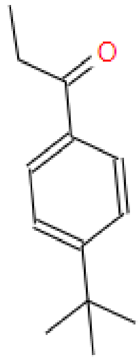
№	Тестируемые образцы	 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид			Время нахождения в открытом рукаве (сек.)	Количество выходов в открытый рукав
		Заместители				
		R1	R2	R3		
2	ДАБ-10	 3,4-Дихлорфенил	H	H	21,3±9,03	2,5±0,92
3	ДАБ-16	 4-Бромфенил	H	H	28,7±8,37	1,7± 0,42
4	ДАБ-21		H	H	112,0±6,65*	4,2±0,54*

№	Тестируемые образцы	 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид			Время нахождения в открытом рукаве (сек.)	Количество выходов в открытый рукав
		Заместители				
		R1	R2	R3		
		2-(1-пирролидил)этил				
5	ДАБ-32	 4-фторфенацил	CH_3	CH_3	10,8±3,79	0,7±0,21
6	ДАБ-33	 4-трет-бутилфенил	CH_3	CH_3	23,7±8,64	0,7±0,21

№	Тестируемые образцы	 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид			Время нахождения в открытом рукаве (сек.)	Количество выходов в открытый рукав
		Заместители				
		R1	R2	R3		
7	ДАБ-34	 2-(1-морфолинил)этил	CH_3	CH_3	12,2±7,83	0,3±0,21
8	ДАБ-35	 уксусная кислота	CH_3	CH_3	15,8±7,7	0,8±0,40
9	ДАБ-36	 4-хлорбензил	CH_3	CH_3	21,8±7,56	1,5±0,67

№	Тестируемые образцы	 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид			Время нахождения в открытом рукаве (сек.)	Количество выходов в открытый рукав
		Заместители				
		R1	R2	R3		
10	ДАБ-39	 2-(1-пирролидил)этил	CH_3	CH_3	21,5±4,36	1,7±0,42
11	ДАБ-40	 3,4-дихлорбензил	H	H	24,2±9,13	1,5±0,50
12	ДАБ-41	 4-хлорбензил	H	H	82,0±6,50*	1,7±0,42

№	Тестируемые образцы	 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид			Время нахождения в открытом рукаве (сек.)	Количество выходов в открытый рукав
		Заместители				
		R1	R2	R3		
13	ДАБ-43	 4-фторфенил	H	H	50,3±4,84	2,7±0,33
14	ДАБ-44	 4-фторфенил	CH_3	CH_3	28,7±2,91	2,5±0,22

№	Тестируемые образцы	 11-R-2,3,4,5- тетрагидро[1,3] диазепино-[1,2-α]-бензимидазол гидрохлорид			Время нахождения в открытом рукаве (сек.)	Количество выходов в открытый рукав
		Заместители				
		R1	R2	R3		
15	ДАБ-45	 4-трет-бутилфенил	H	H	73,2±9,17	4,3±0,33

Примечания:
* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0{,}05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

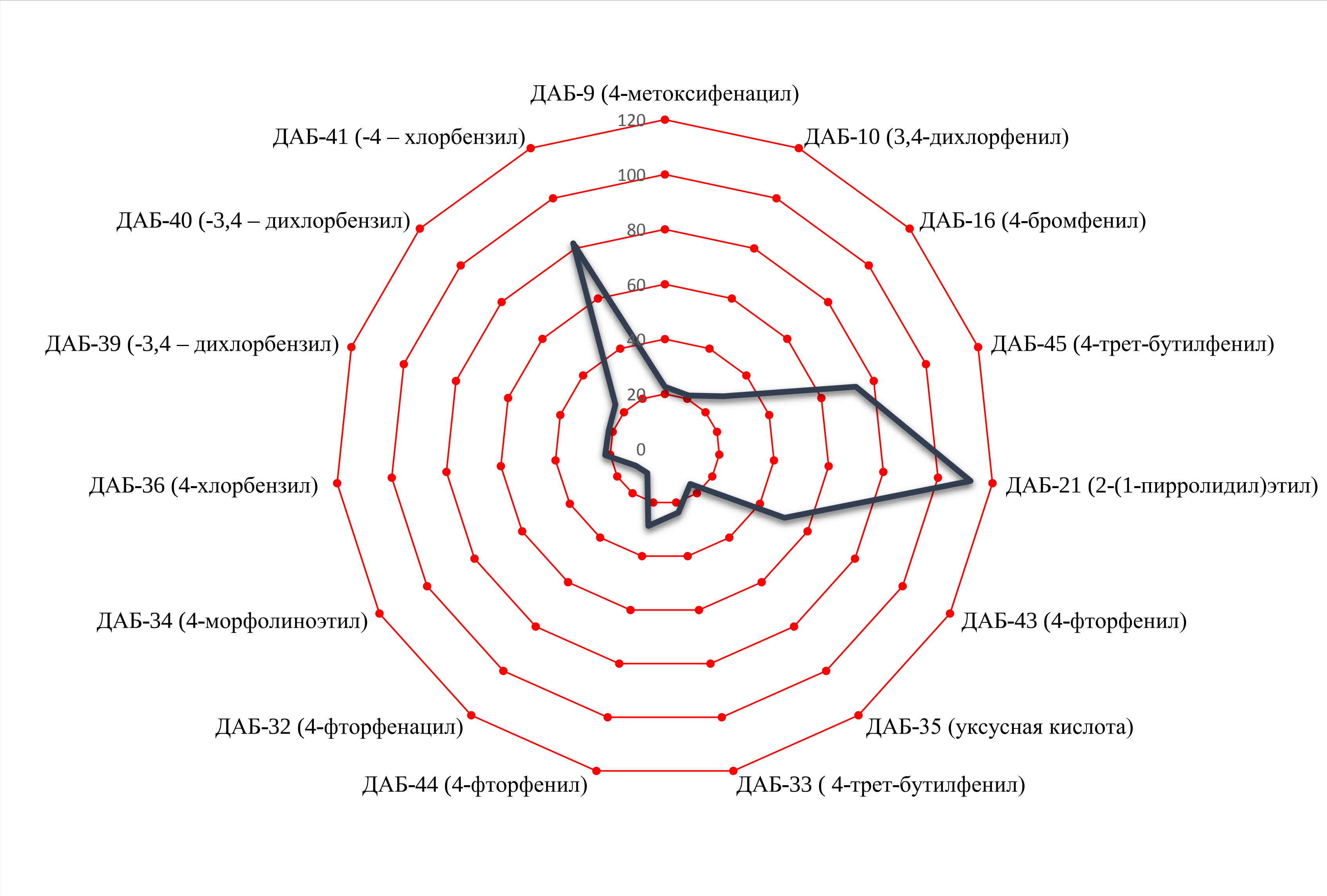


Рисунок 1. Влияние заместителей в N^{11} положении изучаемых производных диазепино[1,2α] бензимидазола, на продолжительность времени, проведенного в светлом рукаве исследуемыми животными.

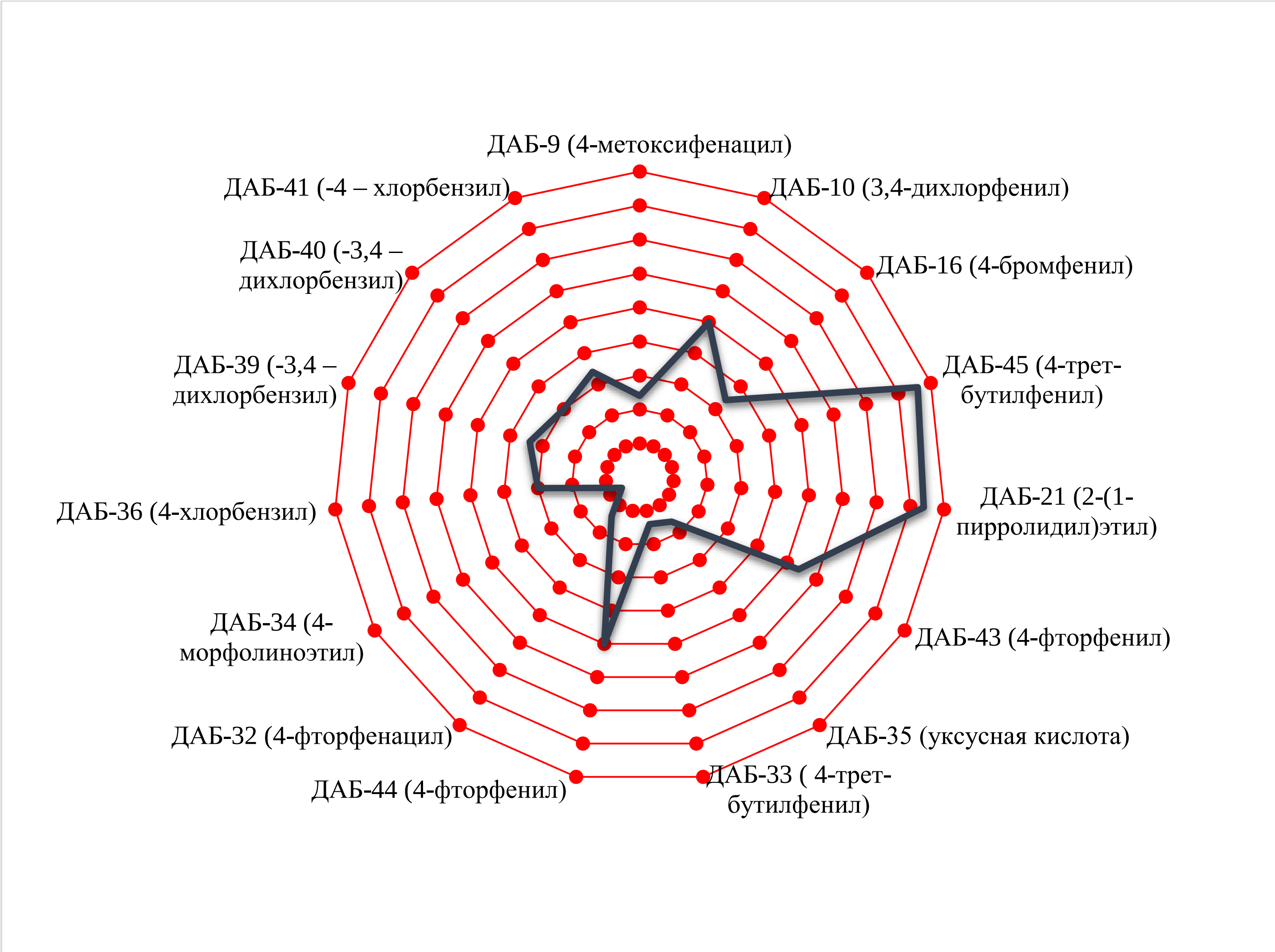


Рисунок 2. Влияние заместителей в N^{11} положении изучаемых производных диазепино[1,2-α]бензимидазола, на количество выходов в открытый рукав исследуемыми животными.

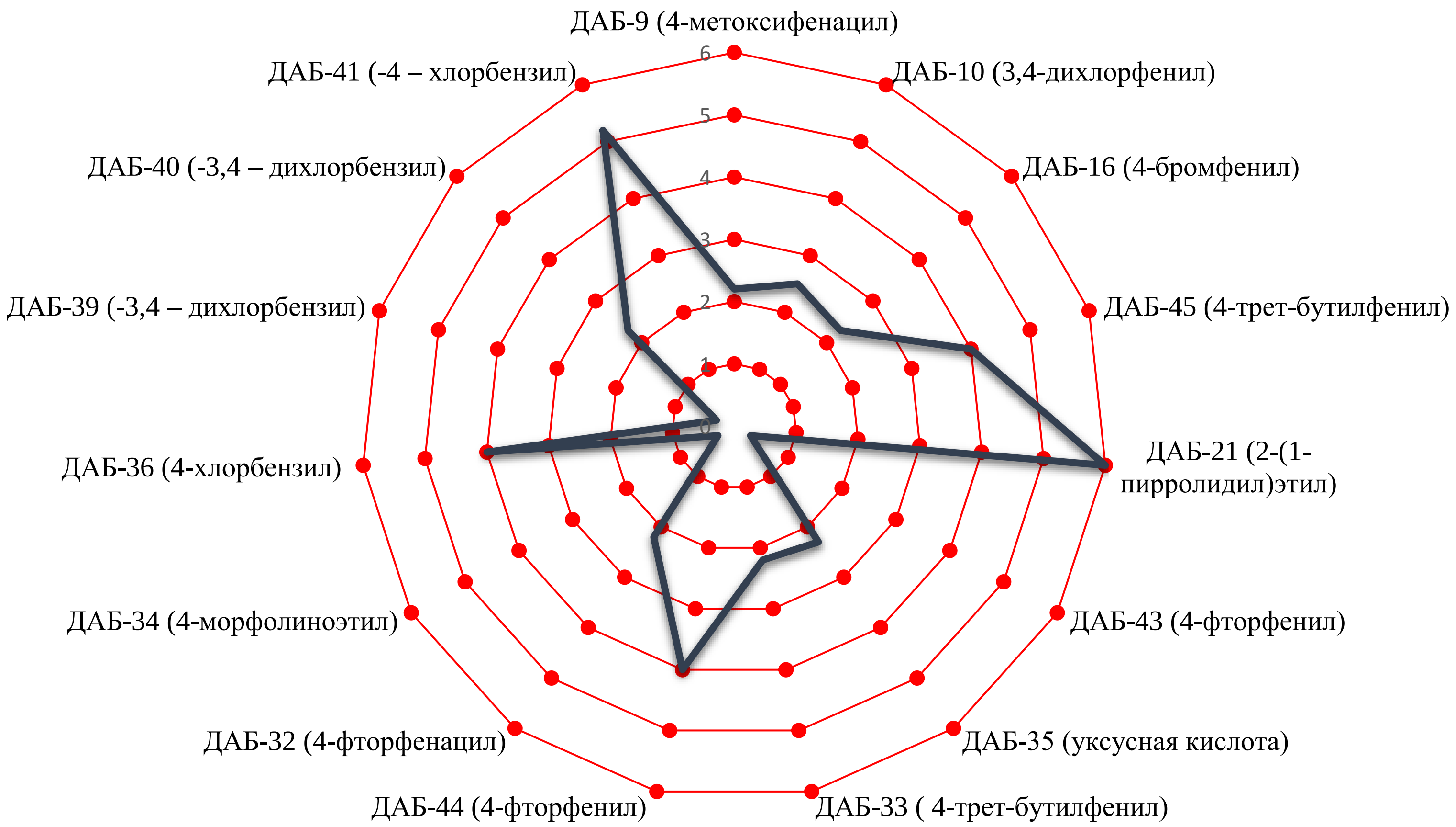


Рисунок 3. Влияние заместителей в N^{11} положении изучаемых производных диазепино[1,2-α]бензимидазола, на количество свешиваний исследуемыми животными.

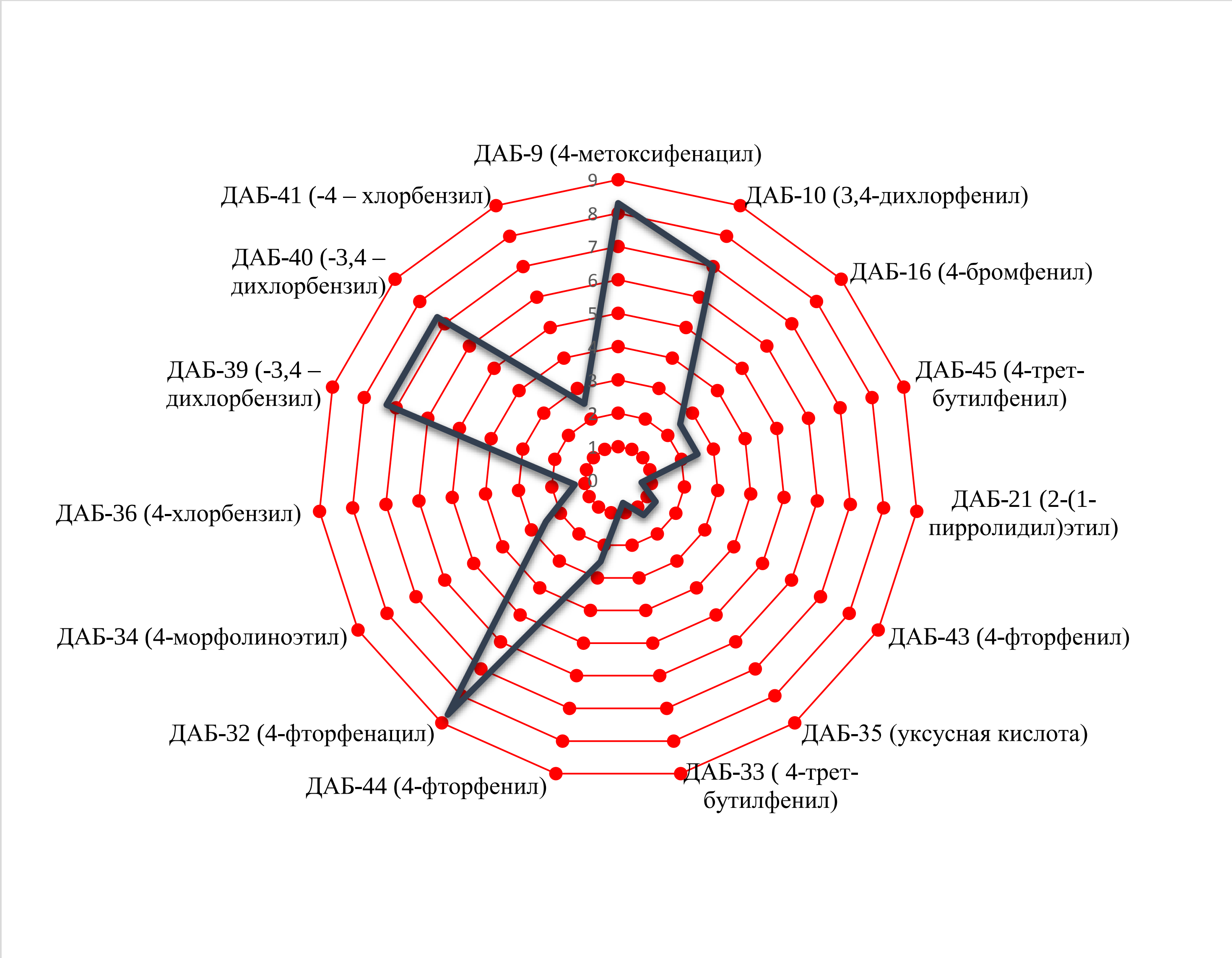


Рисунок 4. Влияние заместителей в N^{11} положении изучаемых производных диазепино[1,2-α]бензимидазола, на количество выглядываний исследуемыми животными.

3.2. Влияние производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола на локомоторную активность мышей в тестах «Актометр», «Ротарод», «Сетка» и «Проволока»

Большинство препаратов с транквилизирующей активностью проявляют выраженные побочные действия, одним из которых является миорелаксация (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014). Данный побочный эффект значительно усложняет терапию тревожных расстройств, особенно у пациентов, чья профессиональная деятельность связана с концентрацией внимания. Для изучения миорелаксирующей активности производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола было выбрано несколько тестов: «Актометр», «Ротарод», «Сетка», «Проволока» (Миронов А. Н. и др., 2012).

Таблица 3.3 – Влияние производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола (в дозах эквимолярных препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на двигательную координацию и мышечный тонус в тесте «Актометр» (M ± m)

Тестируемые образцы	Количество переходов
Контроль	374,8 ± 20,71#
Диазепам (1мг/кг)	105,3±12,85*
ДАБ-9	237,2± 23,96*#
ДАБ-10	334,2 ± 16,81#
ДАБ-16	392,8 ± 14,37#
ДАБ-21	391,8±14,73#
ДАБ-32	218,8 ± 16,76*
ДАБ-33	390,8 ± 11,50#
ДАБ-34	388,7 ± 16,19#
ДАБ-35	380,8 ± 22,03#
ДАБ-36	350,2 ± 36,80
ДАБ-39	392,2± 36,17#
ДАБ-40	347,8 ± 27,31
ДАБ-41	330,0 ± 40,19
ДАБ-43	368,2 ± 12,76#
ДАБ-44	345,8 ± 19,38
ДАБ-45	396,2 ± 12,61#

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0{,}05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

- отличия от группы препарата сравнения диазепама статистически значимы ($p \leq 0{,}05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

При изучении миорелаксирующей активности животных в установке «Актометр» (Таблица 3.3) статистические различия относительно группы контроля, помимо группы диазепама (указывающие на развитие миорелаксирующего и седативного действия) были зарегестрированы у животных под действием ДАБ-9 и ДАБ-32. Полученные данные были значительно ниже, чем значение контрольной группы. Сопоставляя полученные данные с показателями приподнятого крестообразного лабиринта можно сделать предположение о развитии миорелаксации и седации у животных под действием данных веществ в изучаемых дозировках, соответствующих 1 мг/кг диазепама. У животных, которым вводили внутрижелудочно соединения ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-21, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-41, ДАБ-43, ДАБ-44 и ДАБ-45 отсутствовало развитие миорелаксации, показатели количества переходов данных групп были сопоставимы с показателем группы контроля. Таким образом, полученные результаты можно интерпритировать как отсутствие у большинства исследуемых веществ миорелаксирующего эффекта.

Таблица 3.4 Влияние производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола (в дозах эквимолярных препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на двигательную координацию и мышечный тонус в тесте «Ротарод» (M ± m)

Тестируемые образцы	Время, проведенное в установке (с)
Контроль	29,8±0,17$^{\#}$
Диазепам (1мг/кг)	12,8±2,75*
ДАБ-9	22,7±2,29
ДАБ-10	28,2±0,79
ДАБ-16	29,7±0,21$^{\#}$
ДАБ-21	29,7±0,21$^{\#}$
ДАБ-32	16,2 ±1,96*
ДАБ-33	29,5±0,34$^{\#}$
ДАБ-34	29,5±0,34$^{\#}$
ДАБ-35	29,7±0,33$^{\#}$
ДАБ-36	26,0±1,69
ДАБ-39	29,3±0,67$^{\#}$
ДАБ-40	29,0±0,52$^{\#}$
ДАБ-41	28,2±0,87
ДАБ-43	24,2±1,62
ДАБ-44	29,7±0,21$^{\#}$
ДАБ-45	29,7±0,21$^{\#}$

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

- отличия от группы препарата сравнения диазепама статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

Другой моделью для подтверждения развития или отсутствия миорелаксирующего действия был «Вращающийся стержень» («Ротарод») (Таблица 3.4). Соединение ДАБ-32 показало результат, статистически сопоставимый с результатом группы диазепама, что является показателем развития миорелаксации у животных. Время группы ДАБ-9, проведенное в установке «Ротарод» было ниже относительно контроля на 24 %, группы ДАБ-43 - на 19 %. Эти данные так же коррелируют и подтверждают ранее полученные в тесте «Актометр». Животные, которым вводили соединения ДАБ-16, ДАБ-21, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-41, ДАБ-43 и ДАБ-45 по полученным показателям статистически не отличались от контрольной группы, что является показателем отсутствия миорелаксирующего действия.

Результаты изучения миорелаксирующей активности на моделях «Сетка» и «Проволока» представлены в Таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Влияние производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола (в дозах эквимолярных препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на двигательную координацию и мышечный тонус в тестах «Сетка и «Проволока»» (M ± m), внутрижелудочное введение

Тестируемые образцы	Сетка, баллы	Проволока, баллы
Контроль	4,0±0,01#	4,0±0,01#
Диазепам(1мг/кг)	2,8±0,40*	3,0±0,37*
ДАБ-9	4,0±0,01#	4,0±0,01#
ДАБ-10	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-16	4,0±0,01#	4,0±0,01#
ДАБ-21	4,0±0,01#	4,0±0,01#
ДАБ-32	3,5 ± 0,22	3,5 ± 0,22
ДАБ-33	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-34	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-35	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-36	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-39	3,8±0,17	4,0±0,01#
ДАБ-40	3,8±0,17	4,0±0,01#
ДАБ-41	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-43	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-44	3,7±0,21	3,7±0,21
ДАБ-45	4,0±0,01#	4,0±0,01#

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

- отличия от группы препарата сравнения диазепама статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

Было установлено, что показатели группы животных, которым вводили соединение ДАБ-32, различаются со значениями контрольной группы, и соотвтетствуют значениям, полученным от группы препарата сравнения диазепама, что свидетельствует о развитии миорелаксирующих свойств у мышей. Полученные данные коррелируют со значениями в тестах «Ротарод» и «Актометр». Данные, полученные из других 14 групп изучаемых соединений статистически не отличались от значений контрольной группы, что подтверждает отсутствие развития миорелаксации у животных.

Таким образом, в результате изучения 15 производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола на предмет наличия или отсутствия миорелаксирующих свойств было выяснено, что соединения проявляют различный уровень миорелаксации. Так, вещество ДАБ-32 у животных вызывало выраженную миорелаксацию, которая была подтверждена в тестах «Актометр», «Ротарод», «Сетка» и «Проволока». Показатели, полученные от групп животных, которым вводили ДАБ-32, соответствуют показателям групп препарата сравнения – диазепама, который проявляет выраженные миорелаксирующие свойства. Мыши, под действием соединения ДАБ-9 и ДАБ-43 проявили умеренную миорелаксирующую активность, которая была подтверждена в тестах «Ротарод» и «Актометр». Показатели данных групп превосходили показатели групп диазепама, но были ниже значений контроля. У животных, которым вводили ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-21, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-41, ДАБ-44 и ДАБ-45 миорелаксирующей активности выявлено не было.

Заключение

В результате изучения анксиолитической активности 15 соединений – производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола было выяснено, что все вещества проявляют различный уровень анксиолитического эффекта. У животных которым вводили соединение ДАБ-21 была показана выраженная анксиолитическая активность, которая превосходила значения группы диазепама. Так, по показателям количества переходов, мыши под действием ДАБ-21 активно выходили в открытые рукава установки, изучали все участки модели ПКЛ, средняя продолжительность нахождения животного в светлом отсеке была равной 112 секундам, что превышает показатель группы диазепама в 1,2 раза. Животные совершали большое количество свешиваний. Так же, по результатам 4 тестов, направленных на выявление миорелаксирующей активности было показано, что животные под действием ДАБ-21 не проявляют выраженных миорелаксирующих свойств. Соответственно, можно сделать вывод о том, что химическая структура, состоящая из 2-пирролидиноэтильного радикала совместно с базовой структурой производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола, а именно 11-Диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола имеет необходимые физико-химические свойства для создания связи с биологической мишенью и развития выраженного противотревожного эффекта.

У животных под действием соединений ДАБ-41 и ДАБ-45 была показана умеренная анксиолитическая активность, которая соответствовала группе препарата сравнения диазепама. В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у мышей, которым вводили данные соединения, было показано увеличение количества переходов относительно группы контроля.

Животные, которым вводили соединение ДАБ-41, находились в светлых рукавах установки в среднем 82 секунды. Животные из группы ДАБ-45 чаще выходили в светлые рукава установки и находились там в среднем 73 секунды, что соответствует уровню мышей, которым вводили препарат сравнения. Соединения ДАБ-41 и ДАБ-45 показали статистическое увеличение количества свешиваний относительно контрольной группы. В результате исследования миорелаксирующих свойств данных соединений, было установлено, что животные, которым вводили ДАБ-41 и ДАБ-45 не проявляют выраженных миорелаксирующих свойств. Можно сделать заключение о том, что 4-хлорбензильный радикал, находящийся в структуре ДАБ-41 и 4-трет-бутилфенильный радикал ДАБ-45 могут быть ответственны за развитие умеренного анксиолитического эффекта и отсутствия миорелаксации у исследуемых животных. Данные радикалы, их расположение рядом с базовой структурой производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола, стерическое положение, свойства - являются перспективной мишенью в доклиническом изучении транквилизирующей активности и требуют химического модифицирования для повторного тестирования на скрининговых моделях.

У групп животных, которым вводили ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-44 и ДАБ-44 была зарегестрирована низкая анксиолитическая активность. Животные под действием данных веществ в установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» показали низкое время нахождения в открытом рукаве, сопоставимое с контрольной группой. В среднем мыши, которым вводили данные вещества провели в открытых отсеках 25 секунд. Показатели количества переходов данных групп животных так же соотносятся с показателями контрольных значений. У мышей, которым вводили соединения ДАБ-9 и ДАБ-10 был отмечен повышенный короткий груминг, что может являться фактором развития стрессируемости животных, к тому же, у данных групп и у животных, которым вводили ДАБ-39 и ДАБ-40, был высокий показатель количества выглядываний, превосходящий как значение контроля, так и препарата сравнения. Оценивая полученные данные и анализируя химическое строение изучаемых соединений можно сделать вывод о том, что стерическое расположение и свойства радикалов соединений ДАБ-9 (4-метоксифенил), ДАБ-10 (3,4-дихлорфенил), ДАБ-39 (3,4 – дихлорбензил) и ДАБ-40 (3,4 – дихлорбензил) являются причиной описанных эффектов - низкая анксиолитическая активность и повышенная стрессируемость. Было показано что радикалы соединений ДАБ-16 (4-бромфенил), ДАБ-43 (4-фторфенил), ДАБ-35 (уксусная кислота), ДАБ-33(4-трет-бутилфенил), ДАБ-44 (4-трет-бутилфенил), ДАБ-34 (2-(1-морфолинил)этил), ДАБ-36 (4-хлорбензил) являются причиной низкого проявления анксиолитического действия. Было замечено, что наличие метильных заместителей в C^8 и C^9 положениях базовой структуры исследуемых веществ (ДАБ-32, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-

36, ДАБ-39, ДАБ-44) неблагоприятным образом отражается на развитии анксиолитического действия.

Соединение ДАБ-32 имеет статистически менее выраженное анксиолитическое действие. Животные под действием данного вещества совершали незначительное количество выходов в открытый рукав, находились в светлом рукаве в среднем 10 секунд, совершали аналогичное с группой контроля количество переходов между рукавами установки. К тому же, у данной группы животных была замечена повышенная стрессируемость, проявляющаяся в большом количестве болюсов, уринаций, выглядываний и короткого груминга. Низкое количество переходов и большое количество болюсов и уринаций так же коррелирует с полученными данными по изучению миорелаксирующей активности. Было доказано, что животные под действием соединения ДАБ-32 проявляют выраженную миорелаксацию, сопоставимую с таковой препарата сравнения. В результате можно сделать предположение о том, что наличие в химической структуре производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола радикала 4-фторфенацила (либо именно такое его стерическое расположение, в котором он находится в соединении ДАБ-32) не приводит к развитию выраженного анксиолитического эффекта, но возможно ответственно за развитие миорелаксации.

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

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ АНКСИОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ ДАБ-21

Для достоверности наличия транквилизирующего действия исследуемой субстанции необходимо изучить данное соединение как минимум на трёх моделях, направленных на определение анксиолитического эффекта (Воронина Т. А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012; Миронов А.Н. и др., 2012) причем одна из моделей должна иметь в своей основе конфликтную парадигму. Были выбраны методики: «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) на котором изучалось действие исследуемого соединения в зависимости от дозы, а так же эффективность выбранной дозы в зависимости от времени, тест «Темная-светлая камера», как дополнительная модель, подтверждающая данные ПКЛ, модель «Оценка тревожно-фобического состояния животных», как альтернативная модель, в результате которой активность веществ регистрируется в совокупности различных подтестов, «Открытое поле», оценивающая поведенческую активность животных и модель наказуемого взятия воды по Vogel, представляющая собой конфликтную ситуацию и оценивающая анксиолитическое действие веществ, выражаемое преодолением страха животных перед болевым раздражителем.

В результате проведённого скринингового исследования анксиолитической активности нового ряда производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола, было выбрано соединение лидер 11-[(2 – пирролидин – 1 – ил) – этил] - 2, 3, 4, 5 - тетрагидро [1 ,3] - диазепино[1,2-a]-бензимидазол дигидрохлорид - под шифром ДАБ-21. Полученные данные группы изучаемого соединение статистически значимо превышали значения группы препарата сравнения диазепама. Так же, в результате изучения локомоторной активности соединения ДАБ-21 не наблюдалось развитие миорелаксации.

4.1. Изучение анксиолитической активности соединения ДАБ-21 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Большинство средств с транквилизирующей активностью, используемых в настоящее время при терапии тревожных расстройств, имеют различное проявление эффектов в зависимости от их дозы, что может выражаться в изменении проявления нейропсихотропного действия, либо перехода его в другой эффект (седация или гипногенное действие при повышении дозы производных диазепина) (Осадший Ю. Ю., Вобленко Р.А., Арчаков Д.С., 2016). Поэтому следующим этапом в изучении транквилизирующей активности ДАБ-21 было исследование анксиолитического профиля вещества в диапазоне доз и во временном интервале. Задачей данных исследований было обозначить границы противотревожного действия исследуемого соединения.

4.1.1. Влияние соединения ДАБ-21 на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в зависимости от дозы

Препарат сравнения диазепам был взят в наиболее активном диапазоне доз с проявлением анксиолитического эффекта – от 0,1 мг/кг до 4 мг/кг, также была выбрана высокая дозировка 29 мг/кг для регистрации явного седативного эффекта (Calcaterra N. E., Barrow J.C., 2014) (Таблица 4.1 и Таблица 4.2; Рисунок 4.1 и Рисунок 4.2). Изучение анксиолитического эффекта соединения ДАБ-21 в зависимости от дозы проводилось впервые, было принято решение увеличить диапазон дозировок для получения дополнительной информации об исследуемом веществе.

Показатели реактивности животных, которым вводили ДАБ-21 в диапазоне доз от 0,00013 до 2,52 мг/кг, находились на уровне значений контроля. Мыши под действием ДАБ-21 в дозе 29 мг/кг показали увеличение реактивности, сопоставимое с показателем группы диазепама в дозе 2 мг/кг. Данные, полученные при анализе показателя реактивности, позволяют сделать предположение о том, что животные под действием более широкого диапазона доз соединения ДАБ-21 быстрее справляются с задачей выбора дальнейшего направления в установке, чем животные под действием диазепама, что скорее всего связано с угнетающим и седативным действия изучаемого соединения относительно препарата сравнения.

Показатели латентного времени выхода из темного рукава животных, которым вводили соединение ДАБ-21 в диапазоне доз от 0,00013 мг/кг до 29 мг/кг, превосходили показатель группы интактных животных. Мыши, получавшие ДАБ-21 в дозе 2,52 мг/кг, выходили из темного рукава установки быстрее, чем животные группы препарата сравнения с эквимолярной концентрацией – 2 мг\кг в 1,9 раз ($p \leq 0,05$). Мыши из опытных групп, в сравнении с диазепамом, быстрее пересекали границу выхода из темного отсека, что может быть следствием развития более выраженного анксиолитического действия и низкой седативной активности.

Количество выглядываний животных (Таблица 4.2) опытных групп в диапазоне доз 0,013 мг/кг до 29 мг/кг соответствовало значениям эквимолярных доз групп диазепама и превосходило показатель контроля ($p \leq 0,05$). В группах животных, которым вводили ДАБ-21 в дозах 0,0013 мг/кг и 0,00013 мг/кг было показано увеличение количества выглядываний из темного рукава. Аналогичная картина наблюдается при анализе показателя количества свешиваний между группами. Так, в диапазоне групп, получавших ДАБ-21 в дозах от 0,013 мг/кг до 29 мг/кг, наблюдается выраженное увеличение свешиваний относительно контроля и эквимолярных доз диазепама. Группа животных, получавшая ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, превосходила показатель группы диазепама в дозе 1 мг/кг на 30% ($p \leq 0,05$), животные, под действием ДАБ-21 в дозе 2,52 мг/кг также превосходили показатель группы препарата сравнения в дозе 2 мг/кг на 30% ($p \leq 0,05$). У животных, которым вводили ДАБ-21 в более низких дозах – 0,0013 мг/кг и 0,00013 мг/кг, наблюдалось снижение количества свешиваний до уровня контроля, что коррелирует с количеством выглядываний и возможно связано с низким уровнем анксиолитической активности в данных дозах у соединения ДАБ-21.

У животных, которые получали соединение ДАБ-21, увеличивалось количество переходов между рукавами установки по сравнению с диазепамом в дозах 1 и 2 мг/кг. В менее низких дозировках, таких как 0,1 мг/кг, 0,01 мг/кг и 0,001 мг/кг, эффект от соединения ДАБ-21 также сохранялся на статистически значимом уровне по сравнению с контролем и диазепамом ($p \leq 0,05$).

При регистрации времени нахождения в открытом рукаве, у мышей отмечались результаты, превосходящие показатели препарата сравнения в диапазоне от 0,01 мг/кг до 2 мг/кг ($p \leq 0,05$), анксиолитический эффект диазепама значительно снижался уже в дозе 0,5 мг/кг. Количество выходов в открытый рукав исследуемых животных, после введения соединения, также превосходило показатели препарата сравнения не только в дозировках 1 и 2 мг/кг, но и в диапазоне доз от 0,001 мг/кг до 0,1 мг/кг ($p \leq 0,05$). В концентрации 0,0001 мг/кг так же отмечались изменения, позволяющие предположить анксиолитическую активность, но значительно сниженную по сравнению с остальными дозировками, соответствующими показателю дозы 2 мг/кг препарата сравнения.

Количество болюсов и уринаций опытных групп, получавших ДАБ-21 в диапазоне от 0,0013 мг/кг до 29 мг/кг соответствует эквимолярным показателям групп, получавших диазепам, а также превосходит контроль. При изучении полученных данных заметна ранее наблюдаемая тенденция к снижению анксиолитической активности в группе, получавшей ДАБ-21 в дозе 0,00013 мг/кг.

В результате проведенного исследования зависимости эффекта изучаемого вещества от его дозы можно сделать вывод о том, что соединение ДАБ-21 имеет более широкий диапазон доз, проявляющий анксиолитическую активность, в отличие от препарата сравнения диазепама. В дозировках, соответствующих диазепаму 1 и 2 мг/кг – мыши, которым вводили ДАБ-21, показывали статистически выраженный результат, чем мыши под действием диазепама. Также было отмечено, что в интервале 0,001 мг/кг – 2 мг/кг мыши из опытной группы статистически значимо превосходили анксиолитическую активность диазепама в интервале 0,5 мг/кг – 2 мг/кг. В более высоких концентрациях, таких как 29 мг/кг, у животных под действием ДАБ-21 регистрировалось снижение основного изучаемого эффекта, но без седации. В результате проведенного исследования для дальнейших экспериментов была выбрана дозировка, в которой наиболее активно проявляется противотревожное действие изучаемого соединения - 1,26 мг/кг, соответствующая дозировке – 1 мг/кг препарата сравнения диазепама. Данная дозировка является минимальной, проявляющей максимальный анксиолитический эффект.

Таблица 4.1 – Влияние производного диазепино[1,2-α]-бензимидазола соединения ДАБ-21 и диазепама в диапазоне доз на поведение мышей в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт», внутрижелудочное введение (M±m)

Тестируемые образцы	Доза вещества (мг/кг), внутрижелудочное введение	Количество переходов (общее)	Количество переходов из светлого рукава в светлый	Количество переходов из светлого рукава в темный	Количество переходов из темного рукава в темный	Время нахождения в открытом рукаве (с)	Количество выходов в открытый рукав
Контроль		2,2±0,40	0,2±0,17	0,7±0,33	1,3±0,21	24,2±2,21	0,7±0,33
Диазепам	29	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
	4	5,0±0,45	1,5±0,22	1,3±0,33	2,0±0,26	66,8±12,9	2,2±0,17
	2	8,0±0,82*	1,3±0,21	3,3±0,56	3,3±0,21	73,3±13,94	3,3±0,42
	1	9,3±0,42*	1,5±0,22	4,2±0,31*	3,7±0,33*	90,2±9,82*	4,0±0,45*
	0,5	7,5±1,03	1,7±0,42	3,7±0,49*	2,2±0,31	55,7±4,51	3,8±0,70*
	0,1	4,3±0,42	0,8±0,17	1,5±0,22	2,0±0,37	32,5±3,13	1,3±0,21
ДАБ-21	29	4,5±0,56	0,3±0,33	2,5±0,34	1,7±0,33	39,7±3,99	1,7±0,33
	2,52	9,2±0,65*	2,2±0,17*	5,2±0,79*	1,8±0,48	112,2±7,05*	4,5±0,50*
	1,26	11,5±0,76*	2,2±0,17*	5,0±0,37*	4,7±0,56*	112,0±6,65*	4,8±0,17*
	0,13	9,8±0,70*	1,5±0,22	4,8±0,31*	3,5±0,56	89,8±3,16*	4,2±0,40*
	0,013	8,5±0,92*	0,8±0,17	3,8±0,60*	3,8±0,48*	77,8±8,93	3,0±0,45
	0,0013	7,7±0,96*	0,5±0,22	2,8±0,31	4,3±0,67*	59,3±7,29	2,0±0,37
	0,00013	3,7±0,42	0,5±0,34	1,8±0,17	1,3±0,21	31,1±6,83	1,5±0,34

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

Таблица 4.2 – Влияние производного диазепино[1,2-α]-бензимидазола соединения ДАБ-21 и диазепама в диапазоне доз на поведение мышей в условиях теста «Приподнятый крестообразный лабиринт», внутрижелудочное введение (M±m)

Тестируемые образцы	Доза вещества (мг/кг), внутрижелудочное введение	Реактивность (с)	Латентное время выхода, (с)	Количество выглядываний	Количество свешиваний	Количество болюсов	Количество уринаций
Контроль		1,8±0,31	51,3±4,56	19,7±3,45	5,0±0,52	3,2±0,54	1.0±0,01
Диазепам	29	300,0±0,01*	0,0±0,01*	0,0±0,01*	0,0±0,01	0,0±0,01*	0,8±0,31*
	4	12,7±2,67	82,2±9,86	0,3±0,21*	8,3±1,63	0,0±0,01*	0,3±0,21
	2	2,8±0,40	16,3±1,80	0,3±0,21*	15,5±1,65*	0,3±0,21*	0,5±0,22
	1	2,3±0,42	9,3±1,33*	1,3±0,62*	15,0±1,16*	0,7±0,33	0,2±0,17*
	0,5	1,5±0,22	13,8±2,46	1,3±0,49*	11,0±1,21	0,8±0,48	0,3±0,21
	0,1	1,5±0,22	9,7±1,98*	2,5±0,50	6,8±1,20	0,7±0,33	0,3±0,21
ДАБ-21	29	3,5±0,85	21,2±5,4	0,3±0,21*	9,8±1,62	0,3±0,21*	0,2±0,17*
	2,52	2,0±0,52	8,8±1,66*	1,2±0,40*	20,3±2,59*	0,2±0,17*	0,0±0,01*
	1,26	1,5±0,22	8,0±1,53*	1,2±0,31*	19,5±1,38*	0,2±0,17*	0,2±0,17*
	0,13	1,2±0,17	12,2±1,91	1,3±1,62*	14,5±0,99	0,2±0,17*	0,2±0,17*
	0,013	1,2±0,17	11,0±1,86	7,2±1,76	9,7±2,31	0,7±0,33	0,3±0,21
	0,0013	1,2±0,17	8,3±1,75*	13,5±2,16	6,3±0,80	0,7±0,33	0,3±0,21
	0,00013	1,2±0,17	9,2±2,06*	12,3±1,09	5,5±1,36	1,3±0,42	0,5±0,22

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

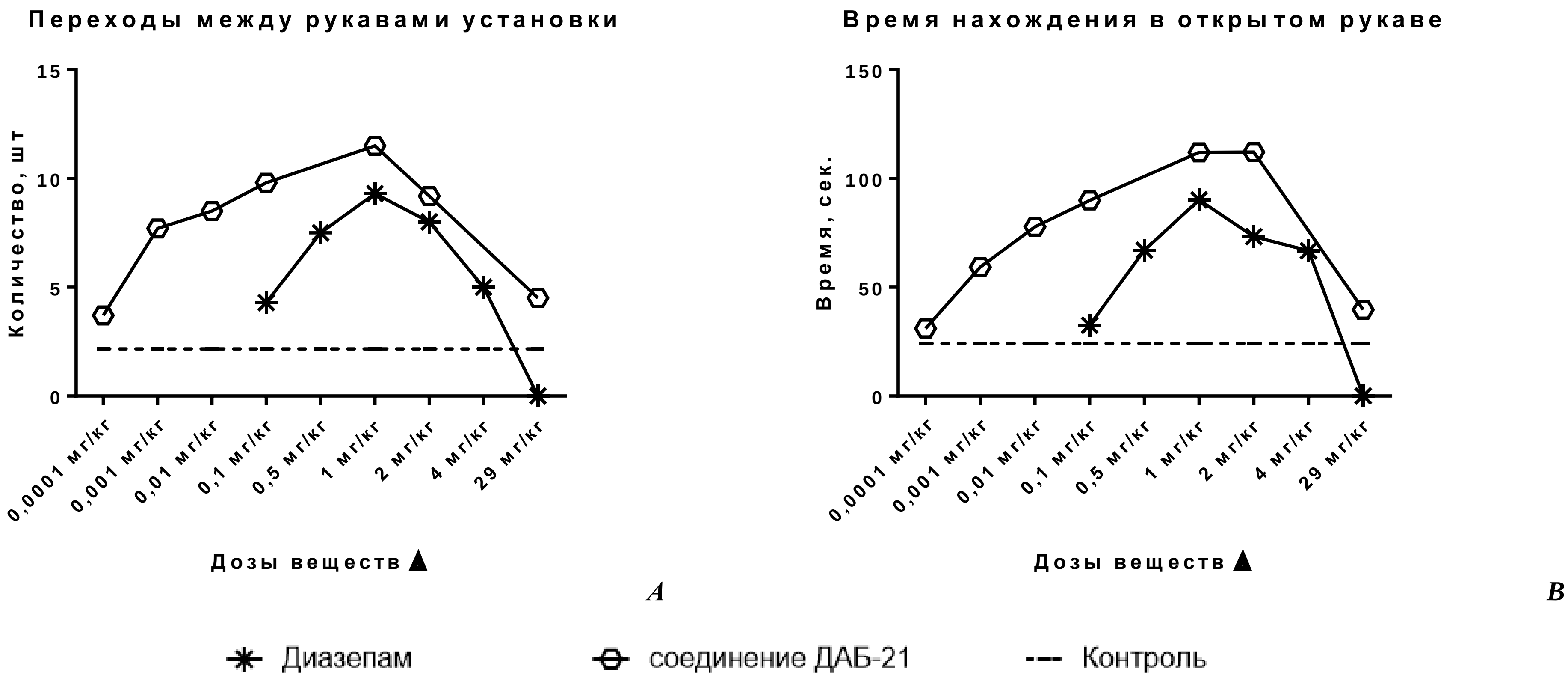


Рисунок 4.1 Влияние соединения ДАБ-21 и диазепама в диапазоне доз на переходы между рукавами (А) и время нахождения в открытом рукаве (В), в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при внутрижелудочном введении.

Примечание: данные достоверны по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскелла - Уоллиса), Δ – дозировки препарата сравнения диазепама, эквимолярные дозировкам соединения ДАБ-21.

А – Общее количество переходов животных между рукавами В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

В – Время нахождения изучаемых групп животных в открытом рукаве в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

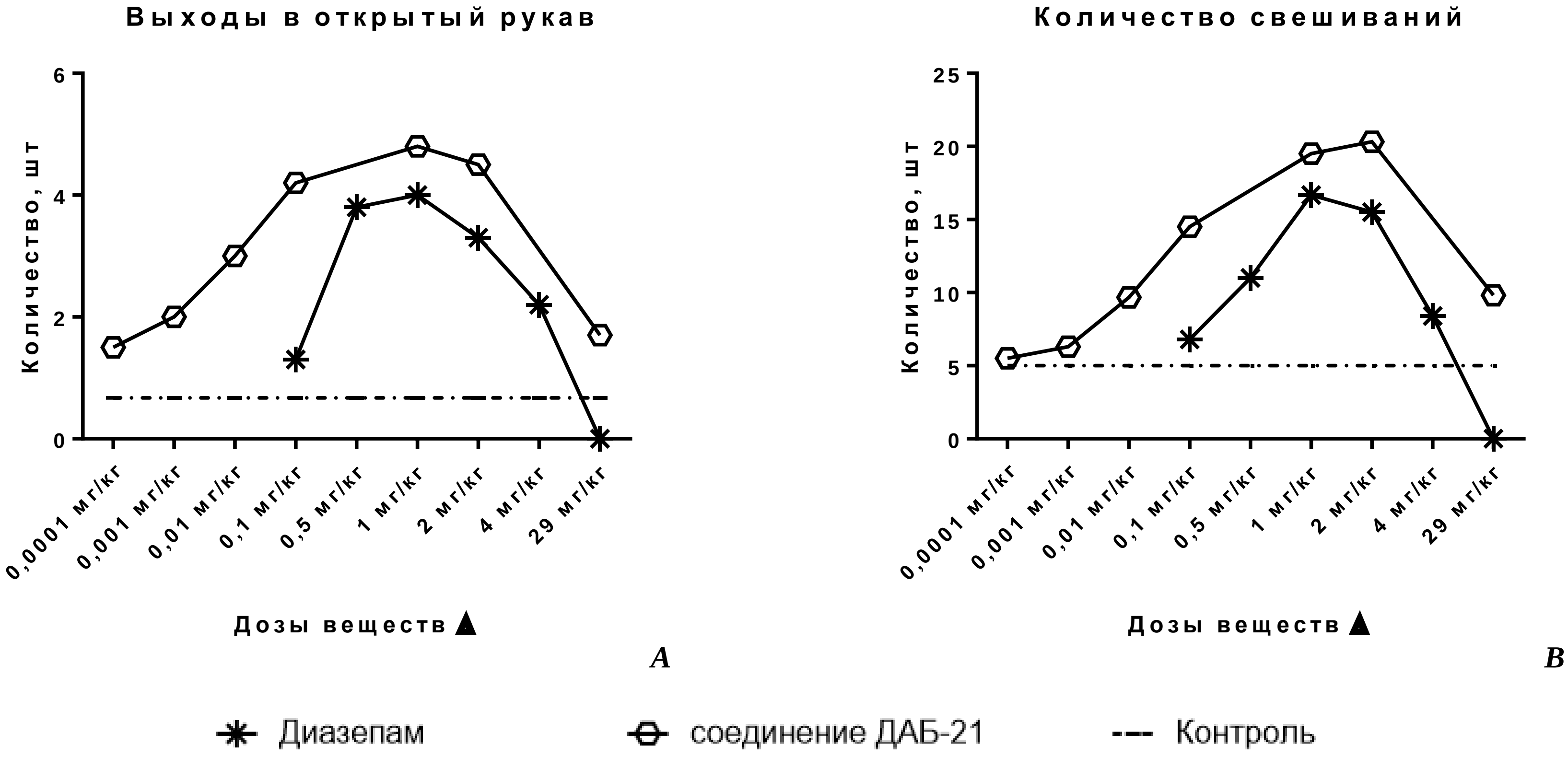


Рисунок 4.2 Влияние соединения ДАБ-21 и диазепама в диапазоне доз на выходы в открытый рукав (А) и количество свешиваний (В), в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при внутрижелудочном введении.

Примечание: данные достоверны по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскелла - Уоллиса), Δ – дозировки препарата сравнения диазепама, эквимолярные дозировкам соединения ДАБ-21.

А – Количество выходов животных в открытый рукав В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

В – Количество свешиваний животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

4.1.2. Исследование длительности действия соединения ДАБ-21 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Для изучения длительности эффекта соединения ДАБ-21 была выбрана доза 1,26 мг/кг, полученная согласно исследованию, описанному в главе 4.1.1. Изучение противотревожной активности соединения лидера проводилось во временном интервале до 24 часов. Каждая исследуемая группа сравнивалась с соответсвующей временному интервалу группой контроля при внутрижелудочном пути введения.

Так, по результатам проведенного исследования показано, что параметр реактивности животных под действием ДАБ-21 всех групп соответствовал значению контроля (Таблица 4.3).

Время нахождения животных в центре установки под действием ДАБ-21 у групп с 0,5 до 4 часов инкубации увеличиваются и статистически значимо превосходят показатель контроля, в последующих группах наблюдается снижение времени, но сохраняется увеличение относительно контроля.

Показатели латентного времени всех групп опытных животных находятся на одном отличительном уровне от показателя контроля, животные под действием ДАБ-21 быстрее выходили в светлый отсек установки.

По общему количеству переходов, все исследуемые животные, которым вводили ДАБ-21, превосходили группу контроля. В интервале групп от 0,5 до 1 часа, которым вводили ДАБ-21, наблюдался рост количества переходов животных. Наибольшее число переходов осуществляли мыши из 0,5 ч и часовой группы. Дальнейшее наблюдение за 2, 4, 8, 12-часовыми группами выявило снижение общего количества переходов, но сохраняясь при этом на статистически высоком уровне относительно контроля. Показатели данного изучаемого параметра у рассматриваемых групп находились примерно на одном уровне, что может служить показателем длительности анксиолитического действия изучаемого вещества. При этом общее количество переходов данных изучаемых групп складывалось из переходов между темными и светлыми отсеками, а также между светлыми рукавами установки. Группа животных, тестируемая через 24 часа после введения ДАБ-21, показала тенденцию к снижению изучаемого параметра и незначительно превышала контроль.

Показатель времени, проведенного в светлых рукавах лабиринта, у опытных групп на интервале от 0,5 до 12 часов находился на одном уровне и статистически значимо превосходил показатель контроля, что может быть оценено как продолжительность анксиолитического действия изучаемого вещества. Мыши, тестируемые через 24 часа после введения ДАБ-21, показали значительное снижение исследуемого параметра. Что возможно является показателем снижения противотревожной активности.

На интервале исследуемых групп от 0,5 до 8 часов, которым вводили ДАБ-21 наблюдается тенденция к росту количества свешиваний животных, статистически превышающих контроль, что может являться следствием развития исследовательского интереса. У последующих опытных групп наблюдается снижение данного параметра на уровень, соответствующий контролю.

Количество болюсов и уринаций опытных групп животных статистически значимо не превосходили или были меньше группы контроля, что свидетельствует об отсутствии развития стрессируемости или тревожности мышей.

В результате изучения зависимости анксиолитического действия соединения ДАБ-21 от времени введения, было показано, что противотревожный эффект изучаемого вещества зависит от времени введения. Было установлено, что наибольшая анксиолитическая активность ДАБ-21 находится в интервале 1-4 часов и снижается с течением времени. Было показано, что через 24 часа после введения соединения ДАБ-21, регистрируемые показатели животных, соответствуют таковым группы контроля. Полученные данные позволяют предположить о длительном анксиолитическом действии соединения ДАБ-21, сопоставимым с длительным действием препарата сравнения диазепама (12-24 ч.)

Таблица 4.3 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг, внутрижелудочное введение) на поведение мышей в условиях методики «Приподнятый крестообразный лабиринт» во временных интервалах (M±m)

Изучаемые параметры	Контроль (дис.вода)	Временные интервалы соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг)						
		0,5 час	1 час	2 часа	4 часа	8 часов	12 часов	24 часа
Реактивность	2,0±0,37	1,5±0,34	1,2±0,17	1,5±0,34	1,3±0,33	1,2±0,17	1,3±0,33	2,3±0,49
Время, проведенное в центре	13,5±1,89	37,7±2,14*	45,5±7,68*	59,5±6,11*	54,7±10,92*	24,7,0±3,40	30,3±3,50	24,0±6,87
Латентное время выхода	40,0±2,45	20,0±2,15*	20,5±4,60*	17,5±1,73*	20,2±2,89*	21,5±2,62	22,8±2,33	20,0±3,72*
Количество переходов из темного в темный рукав	2,8±0,31	9,2±1,01*	7,8±1,40*	7,0±1,29	5,8±1,20	2,5±0,67	3,5±1,18	5,2±0,40
Количество переходов из темного в светлый рукав	0,8±0,40	8,3±1,23*	9,8±2,48*	5,2±1,33	7,0±2,10	6,7±1,09*	4,2±0,83	0,8±0,54
Количество переходов из светлого в светлый рукав	0,2±0,17	2,5±0,22*	2,5±0,43*	2,3±0,33	2,5±1,38	1,8±0,33	3,2±1,38	0,3±0,21
Количество переходов (общее)	3,8±0,48	20,0±0,82*	20,2±2,17*	14,5 ±1,57*	15,3±3,15*	11,0±1,65	10,8±1,49	6,3±1,05
Время в светлом рукаве	12,0±5,59	108,0±4,81 *	109,5±18,89*	107,8±22,23*	98,3±19,06	113,0±19,64*	127,5±18,57*	5,7±3,73
Количество выходов в открытый рукав	0,7±0,33	6,5±0,67*	7,3±1,43*	5,0±0,78*	5,8±2,27	5,2±0,91*	4,3±0,49	0,8±0,54

Изучаемые параметры	Контроль (дис.вода)	Временные интервалы соединения ДАБ-21 (1,26 мг/кг)						
		0,5 час	1 час	2 часа	4 часа	8 часов	12 часов	24 часа
Количество свешиваний	3,7±0,56	10,8±0,70*	13,8±2,48*	10,8±1,38*	11,0±1,37*	11,2±3,18	5,0±1,69	4,5±0,99
Количество выглядываний	6,0±0,82	0,7±0,33*	0,5±0,22*	1,0±0,52	0,3±0,21*	0,3±0,21*	0,7±0,67*	5,8±1,40
Количество Болюсов	3,5±0,34	0,3±0,21*	0,5±0,22*	1,0±0,52	0,3±0,21*	0,8±0,54*	1,2 ±0,48	2,0±0,68
Количество Уринаций	0,7±0,21	0,0±0,01*	0,0±0,01*	0,0±0,01*	0,2±0,17	0,2±0,20	0,3±0,21	0,5±0,22

Примечания: * - Данные достоверны по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса)

4.2. Влияние соединения ДАБ-21 на поведение мышей в тесте «Темная-светлая камера»

Тест "Темная-светлая камера" предназначен для изучения поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий) и позволяет оценить: предпочтение темноты/света; выраженность и динамику поведения (Воронина Т. А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012).

Таблица 4.4-Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1мг/кг, внутрижелудочное введение) на поведение мышей в условиях методики «Темная-светлая камера» (M±m)

Тестируемые образцы	Время до выхода в светлый рукав (сек.)	Количество переходов	Общее время в светлом отсеке (сек.)
Контроль	59,8±7,25	6,3±0,62	58,0±5,09
Диазепам	30,8±3,40*	10,5±0,76*	98,7±4,49*
ДАБ-21	20,8±1,28*	11,2±0,60*	107,8±3,42*

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

Животные, которым вводили соединение ДАБ-21, совершали статистически большее количество переходов (Таблица 4.4) между камерами установки относительно полученного показателя от группы контроля в 1,8 раза (p≤0,05), данный показатель находился на уровне показателя группы диазепама. Количество времени, проведенное в светлом отсеке данной изучаемой группой, также статистически превышало показатели количества времени контрольных животных в 1,9 раза, а мышей препарата сравнения на 10% (p≤0,05). Латентное время выхода из темной камеры у мышей под действием соединения ДАБ-21 было статистически меньше, чем у групп контроля и диазепама в 2,9 и 1,5 раз соответственно (p≤0,05), что, совместно с другими показателями, может свидетельствовать о развитии у данной группы животных выраженного анксиолитического эффекта. Также отмечено, что в поведении мышей, которым вводили соединение ДАБ-21, не наблюдалось эффектов седации: мыши активно перемещались между отсеками, совершали вертикальные стойки, наблюдался длительный груминг.

4.3. Действие соединения ДАБ-21 на поведение крыс в тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel»

Данная модель, предназначенная для изучения анксиолитического действия веществ, в отличие от предыдущих моделей, в своей основе содержит конфликтную парадигму (Vogel J. R., Beer B., Clody D.E., 1971; Миронов А.Н. и др., 2012).

Таблица 4.5 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг, эквимолярной препарату сравнения диазепаму в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на поведение крыс в тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel» (M±m)

Тестируемые образцы	Латентное время подхода к поилке (сек.)	Латентное время подхода к поилке после удара тока (сек.)	Количество подходов
Контроль	37,3±11,12	562,7±11,12	1,00±0,01
Диазепам	18,5±1,61*	85,3±6,31*	2,7±0,33*
ДАБ-21	9,8±1,97*	46,0±10,78*	3,3±0,49*

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0{,}05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

В группе крыс с однократным введением ДАБ-21 увеличивалось число наказуемых взятий воды (Таблица 4.5) из поилки на 20% ($p \leq 0{,}05$) по сравнению с диазепамом и в 3,3 раза ($p \leq 0{,}05$) по сравнению с контрольной группой. Было замечено, что у животных под действием ДАБ-21 снижался латентный период взятия воды в сравнении с диазепамом, также снижалось время между первым и вторым подходами к поилке. Таким образом, соединение ДАБ-21 по выраженности анксиолитического эффекта в тесте конфликтной ситуации статистически не уступает диазепаму, что может свидетельствовать о выраженном анксиолитическом действии изучаемого вещества.

4.4. Противотревожная активность соединения ДАБ-21 в тесте «Оценка тревожно-фобического состояния животных» на крысах

Модель оценки тревожно-фобического состояния является альтернативным подходом в изучении противотревожной активности новых соединений, так как, в отличие от других методик, животное оказывается в различных стрессорных ситуациях, позволяющих определить уровень тревожности животного более комплексно (Лебедев А. А. и др., 2016; Шабанов П.Д. и др., 2016;). По результатам изучения действия вещества ДАБ-21 в тесте «спуск с платформы» крысы, которым вводили данное соединение (Таблица 4.6) справлялись с поставленной задачей аналогично группе диазепама, что может быть расценено как подавление тревожно-фобического состояния у этих животных. Показатель исследуемого вещества в тесте 1 был равен 0,7±0,49 балла, что статистически превосходит показатель контрольной группы в 3,1 раза ($p \leq 0{,}05$), и соответствует показателю группы диазепама. В тесте прохождения через отверстие после введения соединения ДАБ-21 было зафиксировано достоверное снижение латентного времени прохода через отверстие в 2,6 раз относительно контроля (p≤0,05), и было сопоставимо с показателем группы диазепама. Животные не испытывали тревогу при переходе в новое неизученное пространство, большинство из них не останавливалось в зоне перехода, не пыталось пятиться назад, активно обнюхивало и изучало как первый отсек, так и второй.

Таблица 4.6 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на тревожно-фобическое состояние (баллы) у крыс (M±m)

Название теста	Контроль (дис.вода)	Диазепам	ДАБ-21
Тест 1 (спуск с платформы)	2,2±0,40	0,5±0,34*	0,7±0,49*
Тест 2 (проход через отверстие)	3,1±0,15	1,3±0,46*	1,2±0,28*
Тест 3 (выход из «домика»)	3,3±0,17	1,9±0,60	2,4±0,27
Тест 4 (выход из центра «открытого поля»)	1,8±0,48	0,7±0,49	0,3±0,21
Тест 5 (пячение в «открытом поле»)	0,2±0,17	0,0±0,01	0,0±0,01
Тест 6 (пячение на действие руки)	0,8±0,31	0,2±0,17	0,0±0,01*
Тест 7 (затаивание)	0,8±0,17	0,5±0,22	0,7±0,21
Тест 8 (вокализация)	1,2±0,31	0,5±0,22	0,5±0,22
Тест 9 (прижимание ушей)	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Сумма баллов	11,8±0,31	5,6±0,60*	5,8±0,92*

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

Полученный показатель теста 3 – выход из домика – опытной группы был равен 2,4±0,27 балла, данное значение ниже значения группы контроля в 1,4 раза и соответствует показателю группы препарата сравнения (p≤0,05). Животные, которым вводили ДАБ-21, в меньшей степени проявляли желание оставаться в замкнутой и комфортной для них среде, имели больший интерес к окружающему пространству, активно обнюхивали территорию вне домика.

Показатель выхода из центра «Открытого поля» можно интерпретировать как совокупность показателей исследовательской (изучение нового пространства) и анксиолитической (отсутствие страха выхода, спуска) активностей. В данном случае наблюдалось снижение времени нахождения в центре группы животных под действием ДАБ-21, их показатель был равен 0,3±0,21 баллам, что в 2,3 раза меньше относительно группы диазепама (p≤0,05), а в сравнении с контрольной группой - меньше в 6 раз (p≤0,05), что свидетельствует о снижении тревожности животных и увеличении поисковой активности.

Группа тестов с действием руки экспериментатора (пячение, вокализация, затаивание, прижимание ушей) показывает степень тревожности животного в зависимости от того, в какой момент действия руки возникает реакция: приближение руки экспериментатора, поглаживание, продолжительное поглаживание, а также реакция животного после воздействий (Лебедев А. А. и др., 2016). Так, в тесте пячения на действие руки экспериментатора в группах животных, которым вводили диазепам и ДАБ-21 наблюдалось снижение реакции на раздражитель. Вокализация под воздействием вещества ДАБ-21 снижалась относительно контрольной группы и соответствовала результатам группы препарата сравнения. Для показателя прижимания ушей достоверных результатов не показала ни одна группа, что является проявлением нормальной реакции животного.

Завершающим этапом исследования стала оценка проведенных тестов по совокупной сумме баллов и характеристика уровня психофизиологического состояния животных. Исходя из полученных результатов, можно предположить о значительном снижении тревоги и страха у животных, получавших соединение под лабораторным шифром ДАБ-21, чей показатель был равен 5,8±0,92 балла, что соответствовало значению группы диазепама, и было в 2 раза меньше значения контрольной группы (p≤0,05).

4.5. Влияние соединения ДАБ-21 на поведение мышей в тесте «Открытое поле»

При однократном введении соединения ДАБ-21 исследуемым животным статистически значимо повышалось количество пересеченных квадратов – горизонтальная активность. Показатели опытной группы превосходили контрольные и препарата сравнения в 2,6 и 1,9 раза соответственно (p≤0,05) (Таблица 4.7). Вертикальные стойки - в 4,8 и 6,2 раза соответственно (p≤0,05). Поисковая активность исследуемого соединения также увеличивалась по отношению к контролю и диазепаму в 1,6 и 2,5 раза соответственно (p≤0,05). Увеличивалось число стоек и заглядываний в отверстия (ориентировочно-исследовательская активность) у животных под действием соединения ДАБ-21. Кроме того, при введении ДАБ-21 мышам, статистически достоверно увеличивалось число посещений центральной ярко освещенной зоны (аверсивной для норных грызунов) по сравнению с контролем и группой препарата сравнения в 6,5 и 1,7 раза соответственно (p≤0,05). У мышей под действием ДАБ-21 снижалось число актов кратковременного (менее 5 сек) «тревожного» груминга в сравнении с группой контроля в 4 раза, и соответствовало показателю группы диазепама (p≤0,05). Также было замечено, что количество длительного груминга животных которым вводили ДАБ-21 статистически повышалось относительно контроля и группы препарата сравнения в 17,7 и 1,3 раза соответственно (p≤0,05), что свидетельствует о комфортном эмоциональном состоянии животных. Количество болюсов и уринаций животных которым вводили ДАБ-21 статистически ниже, чем полученные показатели контроля и соответствуют данным группы препарата сравнения, что может свидетельствовать об отсутствии развития стресса у крыс.

Таблица 4.7 – Влияние соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг (эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1мг/кг, внутрижелудочное введение) на поведенческую активность мышей в тесте «Открытое поле» (M±m)

Тестируемые образцы	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Поисковая активность	Груминг		Количество выходов в центр	Болюсы	Уринации
				длинный	короткий			
Контроль	55,0±2,27	3,2±0,60	3,5±0,43	0,3±0,21	5,2±1,11	1,5±0,76	4,0±0,52	0,7±0,21
Диазепам	72,5±6,10*	2,5±0,43	2,2±0,31	4,0±0,37*	1,3±0,42*	5,8±0,83*	1,3±0,56*	0,3±0,21
ДАБ-21	140,7±7,70*	15,3±1,38*	5,5±0,43•	5,3±0,56*	1,3±0,49*	9,7±1,63*	0,7±0,33*	0,3±0,21

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна);

4.6. Заключение

В результате изучения анксиолитической активности производного диазепино[1,2-α]-бензимидазола - 11 - [(2 – пирролидин – 1 – ил) – этил] - 2, 3, 4, 5 - тетрагидро [1 ,3] - диазепино[1,2-а]-бензимидазол дигидрохлорида под лабораторным шифром ДАБ-21, было установлено, что соединение имеет выраженную противотревожную активность, доказанную по ряду доклинических исследований и превышающую активность препарата сравнения диазепама.

Так в результате проведенного исследования было показано, что соединение ДАБ-21 имеет более широкий диапазон доз, проявляющий анксиолитическую активность от 0,0013 мг/кг до 29 мг/кг, в отличие от препарата сравнения диазепама.

В результате изучения зависимости анксиолитического действия соединения ДАБ-21 от времени введения, было показано, что противотревожный эффект изучаемого вещества зависит от времени. В течении первых 12 часов развивается максимальный анксиолитический эффект, а в последующие 12 часов происходит его постепенное снижение до уровня контроля. Полученные данные позволяют предположить о длительном анксиолитическом действии ДАБ-21, сопоставимым с длительным действием таковым препарата сравнения диазепама (12-24 ч.).

При изучении антифобических свойств ДАБ-21 в тесте «Темная-светлая камера» наблюдалась картина, аналогичная «Приподнятому крестообразному лабиринту», данные коррелируют с ранее полученными показателями из других тестов. Животные, которым вводили ДАБ-21, совершали статистически большее количество переходов между камерами установки относительно показателей групп контроля и диазепама, количество времени, проведенное в светлом отсеке статистически превышало контрольные показатели и диазепама. Также было отмечено, что в поведении мышей, которым вводили соединение ДАБ-21, не наблюдалось эффектов седации, присущих диазепаму: мыши активно перемещались между отсеками, совершали вертикальные стойки, наблюдался длительный груминг.

Тест «Наказуемого взятия воды по Vogel», проводимый на другом виде лабораторных животных (крысы), так же подтверждает ранее полученные данные. Соединение ДАБ-21 по выраженности анксиолитического эффекта в тесте конфликтной ситуации статистически значимо превосходит показатели контроля и не уступает диазепаму.

При изучении анксиолитической активности ДАБ-21 в дополнительных тестах «Оценка тревожно-фобического состояния животных» (проводимая на крысах) и «Открытое поле» (проводимое на мышах), так же была подтверждена высокая анксиолитическая активность соединения ДАБ-21. В результате изучения противотревожной активности ДАБ-21 на ТФС было установлено, что у животных, получавших данное соединение, значительно снижались тревога и страх.

В результате изучения анксиолитической активности ДАБ-21 на модели «Открытое поле» было показано, что мыши, которым вводили ДАБ-21 активно исследуют тестовую камеру, что может свидетельствовать о развитии выраженного противотревожного действия соединения ДАБ-21.

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

ГЛАВА 5. НЕЙРОПСИХОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНОГО ДИАЗЕПИНО[1,2-α]-бЕНЗИМИДАЗОЛА СОЕДИНЕНИЯ ДАБ-21

Большинство известных анксиолитиков, применяемых при терапии тревожных состояний в настоящее время, в разной степени проявляют и иные нейропсихотропные эффекты (Ладыженский М.Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014, Albott C. S. et al., 2017). К примеру, было зарегестрировано наличие у классических диазепиновых транквилизаторов - антидепрессивного (Albott C. S. et al., 2017), антикомпульсивного (McTague A., Martland T., Appleton R., 2018), анальгетического (Ralvenius W. T. et al., 2015) и снотворного (Matheson E., Hainer B.L., 2017) эффектов. У производных бензимидазола (фабомотизол и др.) так же было показано наличие широкого спектра нейропсихотропных свойств: антидепрессивного (Tantray M. A. et al., 2018), противомигренозного (Яковлев Д.С.и др., 2019), противосудорожного (Спасов А.А. и др., 2018), антикомпульсивного (Kalitin K. Y. et al., 2018), и анальгетического (Гречко О.Ю. и др., 2016) эффектов.

Так как изучаемое соединение ДАБ-21 содержит в своей базовой структуре два привилегированных подкласса – диазепиновый и бензимидазольный, можно предположить, что данное вещество помимо анксиолитической активности будет проявлять и иные нейропсихотропные свойства – снижение обсессивно-компульсивного состояния, подавление агрессивности при зоосоциальном взаимодействии, антидепрессивное и анальгезирующее действия.

5.1. Влияние соединения ДАБ-21 на поведение мышей в тесте «Закапывание шариков»

Тест «Закапывание шариков» применяется для исследования выраженности обсессивно-компульсивного поведения грызунов (ОКР-подобного) и для поиска препаратов с антикомпульсивной активностью (Шабанов П.Д. и др., 2017).

Таблица 5.1- Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на снижение обсессий у мышей в тесте «Закапывания шариков» (M±m)

Тестируемые образцы	Количество закопанных шариков
Контроль	11,2±1,68
Диазепам	3,0±0,73*
ДАБ-21	0,5±0,22*

Примечания:
* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна)

На основании полученных результатов (Таблица 5.1) можно предположить о снижении тревожно–фобического состояния у животных, которым вводили ДАБ-21, по отношению к группе контроля в 22,4 раза (p≤0,05), а препарата сравнения диазепама - в 6 раз (p≤0,05). Соединение ДАБ-21 статистически уменьшает проявление навязчивых состояний (обсессий) у исследуемых животных.

5.2. Действие соединения ДАБ-21 на поведение крыс в тесте «Резидент-интрудер»

Как известно агрессия является важным компонентом многих поведенческих патологий, она встречается при различных тревожно-фобических состояниях, аддиктивных нарушениях, а также патологиях, связанных с социальной дезадаптацией. Тест «Резидент-интрудер» направлен на выявление агрессивного поведения исследуемых животных (Шабанов П.Д. и др., 2017). Было отобрано две контрольные группы, одной из которых вводили растворитель (дистиллированная вода), а другая оставалась интактной. Данное разделение было основано на предположении о том, что сам факт введения раствора в исследуемое животное может вызвать повышенную тревожность, и как следствие может отразиться на полученных результатах. Но введение дистиллированной воды (раствора) необходимо для создания одинаковых условий между группами.

Таблица 5.2 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на зоосоциальное поведение в тесте «Резидент-интрудер» (M±m)

Наблюдаемые параметры	Контроль (интактный)	Контроль (вода)	Диазепам	ДАБ-21
Индивидуальное поведение	7,7±0,98	8,0±0,93	3,8±0,54*	6,8±1,01
Агрессивное поведение	15,8±4,18	16,5±2,47	4,8±0,65*	4,7±0,76*
Коммуникативное поведение	20,0±5,49	16,3±1,54	7,5±0,56*	18,8±1,87
Защитное поведение	2,8±0,48	3,2±0,40	3,3±1,15	3,0±0,63

Примечание: * - Данные достоверны относительно контроля(интактный) (p≤0,05 критерий Краскелла-Уолиса, посттест Данна).

Животные, получавшие ДАБ-21, проявляли статистически менее выраженное агрессивное поведение (Таблица 5.2) относительно групп интактного контроля в 3,4 раза (p≤0,05), и сопоставимое таковому группы диазепама. Так же у данной группы животных было замечено увеличение коммуникативных свойств относительно группы препарата сравнения диазепама в 2,5 раза (p≤0,05), возможно это связано с более выраженным седативным действием, которое проявляет препарат сравнения диазепам. В результате изучения показателей индивидуального и защитного поведения статистических значимых различий обнаружено не было.

В результате проведенного исследования было установлено, что животные под действием ДАБ-21 проявляют статистически менее выраженную агрессивность, относительно групп контроля и диазепама.

5.3. Изучение антидепрессивной активности соединения ДАБ-21

Известно, что в ряде случаев терапия депрессивных состояний поддается более эффективному лечению при совместном применении антидепрессантов с анксиолитическими препаратами (Albott C. S. et al., 2017). Бензодиазепиновые транквилизаторы используются при лечении депрессивных состояний в связи с тем, что их действие уменьшает проявления таких сопутствующих симптомов, как бессонница, беспокойство, тревога, в ряде случаев наблюдается ускорение наступления ремиссии и ее стабилизация у больных с тревожной мнительностью при присоединении транквилизаторов к антидепрессантам в конце депрессивной фазы (Sake F. T. et al., 2019). Некоторые исследователи полагают, что бензодиазепиновые транквилизаторы проявляют тимолептическое действие. При эндогенных депрессиях: быстро и отчетливо обнаруживается терапевтический эффект: улучшается сон и аппетит, редуцируется заторможенность, тревожная ажитация, суицидальные тенденции. По сравнению с антидепрессантами, бензодиазепиновые анксиолитики проявляют более быстрое начало клинического действия, что может быть использовано на начальном этапе терапии депрессивных расстройств (Sake F. T. et al., 2019).

В связи с этим было проведено исследование на предмет выраженности антидепрессивной активности у соединения ДАБ-21.

5.3.1. Влияние соединения ДАБ-21 на поведение мышей в тесте «Принудительное плавание по Porsolt»

Данный тест, в основе которого находится реакция грызуна на угрозу утонуть, был интерпретирован как измерение восприимчивости к негативному настроению (Porsolt R. D., Le Pichon M., Jalfre M.L., 1977). Обычно используется для исследования антидепрессивной активности изучаемых соединений. Оценивается время фризинга (замирания) животного находящегося в воде и не способного выбраться из установки самостоятельно, что расценивается как депрессивное состояние.

В результате проведенного исследования (таблица 5.3) было установлено, что животные под действием даб-21 более активно двигались в воде и время замираний (фризинга) был ниже контрольной группы и препарата сравнения в 3,4 и 1,9 раза соответственно ($p \leq 0,05$).

Таблица 5.3 – Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение), диазепама (в дозе 1мг/кг, внутрижелудочное введение), амитриптилина (в дозе 10 мг/кг, внутрижелудочное введение) и имипрамина (в дозе 8 мг/кг, внутрижелудочное введение) (трехкратное введение) на антидепрессивную активность мышей в тесте «Принудительное плавание по Porsolt» (M±m)

Тестируемые образцы	Время замираний, сек
Контроль	223,2±29,17
Амитриптилин	39,2±6,08*
Имипрамин	36,2±3,53*
Диазепам	126,2±10,30
ДАБ-21	65,8±18,05*

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

Животные, получавшие соединение ДАБ-21 не превосходили показатели классических антидепрессантов – имипрамина и амитриптилина, хотя статистически значимо не различались между собой. В результате чего можно предположить наличие у соединения ДАБ-21 выраженного антидепрессивного действия.

5.3.2. Действие соединения ДАБ-21 на поведение крыс в тесте «Принудительное плавание по Porsolt»

При исследовании антидепрессивной активности на крысах (Porsolt R. D. et al., 1978) были получены данные, коррелирующие с показателями теста Porsolt на мышах (Таблица 5.4). Животные активно двигались в установке и показатель фризинга был статистически ниже группы контроля и диазепама в 1,8 и 1,4 раза соответственно (p≤0,05). Животные опытной группы не превосходили показатели крыс, получавших амитриптилин и имипрамин, что может свидетельствовать о развитии умеренного антидепрессивного эффекта изучаемого соединения.

Таблица 5.4 – Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение), диазепама (в дозе 1мг/кг, внутрижелудочное введение), амитриптилина (в дозе 10 мг/кг, внутрижелудочное введение) и имипрамина (в дозе 8 мг/кг, внутрижелудочное введение) (трехкратное введение) на антидепрессивную активность крыс в тесте «Принудительное плавание по Porsolt» (M±m)

Тестируемые образцы	Время замираний, с
Контроль	125,8±7,95
Амитриптилин	49,3±5,8*
Имипрамин	51,3±6,58*
Диазепам	99,0±5,03
ДАБ-21	69,2±9,08*

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

5.3.3. Влияние соединения ДАБ-21 на поведение мышей в тесте «Подвешивание за хвост»

Тест с подвешиванием за хвост разрабатывался в качестве альтернативны тесту “вынужденное плавание” по Porsolt, и основан на схожих принципах. Мышь, подвешенная за хвост с помощью куска клейкой ленты (безболезненный метод), инстинктивно пытается освободиться из неприятной ситуации (Steru L. et al., 1985, Cryan J. F., Mombereau C., Vassout A. 2005).

Таблица 5.5 – Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение), диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение), амитриптилина (в дозе 10 мг/кг, внутрижелудочное введение) и имипрамина (в дозе 8 мг/кг, внутрижелудочное введение) (трехкратное введение) на антидепрессивную активность мышей в тесте «Подвешивание за хвост» (M±m)

Тестируемые образцы	Время замираний, с	Количество замираний
Контроль	201,0±15,07	7,5±0,42
Амитриптилин	57,3±10,47*	2,7±0,21*
Имипрамин	49,8±10,44*	3,5±0,43*
Диазепам	233,7±19,16	4,2±0,79
ДАБ-21	92,67±5,10*	3,7±0,42*

Примечание:

* - данные достоверны по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса).

Мыши, получавшие соединение ДАБ-21 статистически значимо меньше находились в состоянии фризинга (количество замираний) (Таблица 5.5) по сравнению с контролем и группой диазепама в 2,2 и 2,5 раза соответственно ($p \leq 0,05$), но не превосходили показатели амитриптилина и имипрамина.

Анализируя полученные данные по изучению антидепрессивной активности в трех проведенных тестах, можно сделать предположение, что соединение ДАБ-21 проявляет антидепрессивное действие.

5.4. Анальгетическая активность соединения ДАБ-21

Бензодиазепины (диазепам, оксазепам, нитразепам) в значительной степени ослабляют состояние эмоционального напряжения, вызванное ожиданием боли перед операциоными вмешательствами (премедикация) эффективно уменьшают психологическую реакцию страха боли и ответную реакцию на болевое воздействие (Ветгиева М. С. и др., 2019). Так же бензодиазепины (диазепам, мидазолам) эффективно применяются при нейролептанальгезии, либо ее разновидности – атаралгезии. Состояния «атараксии» и выраженной аналгезии достигают с помощью седативных препаратов и анальгетиков (седуксен, мидазолам, фентанил, морфин, промедол). Сочетание атаралгезии с местной анестезией широко используют, например, в челюстно - лицевой хирургии, эндоскопических исследованиях, лапароскопических оперативных вмешательствах (Неймарк М. И. и др., 2019; Яковлева Е. С., Лазарев В.В., Диориев А.В., 2019).

В тесте «Горячая пластина» латентный период реакции облизывания задних лап мышей, которым вводили ДАБ-21, составил 19,7±1,31 (Таблица 5.6), данный показатель превосходил значения групп контроля и препарата сравнения диазепама в 1,5 и 1,6 раз соответственно ($p \leq 0,05$) и соотвтетсвовал показателю группы животных, получавших буторфанол в дозе 1 мг/кг, что может свидетельствовать о наличии у ДАБ-21 анальгетического эффекта.

В тесте «Отдергивание хвоста» группа животных, которым вводили ДАБ-21, не показала статистических значимых различий между контролем и группой препарата сравнения диазепамом, а также не превосходила буторфанол.

Таким образом, в результате проведенного изучения анальгезирующей активности соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, было показано, что при введении животным иссследуемого вещества в тесте «Горячая пластина» статистически значимо возрастало время облизывания задней лапки и соответствовало показателю препарата буторфанола в дозе 1 мг/кг это свидетельствует о том, что изучаемое соединение блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном уровне. Анальгетической активности соединения ДАБ-21 в тесте «Отдергивания хвоста» выявлено не было, таким образом изучаемое соединение не влияет на ноцицептивные реакции на спинальном уровне.

Таблица 5.6 – Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг при внутрижелудочном введении), диазепама (в дозе 1 мг/кг при внутрижелудочном введении) и буторфанола (в дозе 1 мг/кг при внутрибрюшинном введении) на латентное время развития характерных болевых поведенческих реакций у мышей в тестах «Горячая пластина» и «Отдергивание хвоста» (M±m)

Тестируемые образцы	Латентное время облизывания задней лапки в тесте «Горячая пластина», с	Латентное время одергивания хвоста в тесте «Отдергивание хвоста», с
Контроль	12,8±0,83	3,2±0,48
Диазепам	12,3±1,31	4,2±0,60
Буторфанол	19,7±1,28*	9,7±1,09*
ДАБ-21	19,7±1,31*	4,3±0,67

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0{,}05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

5.5. Исследование наличия миорелаксирующих свойств у соединения ДАБ-21

Известно, что анксиолитическая активность диазепиновых транквилизаторов зависит от дозы препарата и времени введения (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014). На основании ранее полученных данных о длительном транквилизирующем действии соединения ДАБ-21 в течение 24 часов с момента введения, было решено изучить миорелаксирующую активность вещества в течениее 24 часов с момента введения животным в дозе 1,26 мг/кг.

При изучении влияния соединения ДАБ-21 на миорелаксирующую активность в зависимости от времени было показано (Таблица 5.7), что в течение 24 часов у животных всех групп (временные точки: 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 и 24 часа) регистрировались показатели, сопоставимые со значениями контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии развития миорелаксации.

При изучении влияния соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг на миорелаксирующую активность животных в зависимости от времени в тесте «Актометр» (Таблица 5.8) было показано, что количество переходов всех исследуемых групп соответствует показателю группы контроля.

При изучении влияния вещества ДАБ-21 на мышечный тонус животных в зависимости от времени в тестах «Сетка» и «Проволока», было показано (Таблица 5.9), что все исследуемые группы диапазона от 0,5 до 24 часов соответствовали группе контроля, что может свидетельствовать об отсутствии развития миорелаксации у животных под действием ДАБ-21.

Таблица 5.7 – Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на двигательную координацию мышей в зависимости от времени в тесте «Ротарод» (M±m)

Тестируемые образцы	Количество времени, проведенное животным на тесте «Вращающийся стержень» («Ротарод»), с
Контроль (дис.вода)	29,0±0,52
Диазепам	16,7±1,76*
ДАБ-21	
0,5 час	29,3±0,42
1 час	29,3±0,49
2 часа	29,3±0,33
4 часа	29,3±0,33
8 часов	29,0±0,52
12 часов	29,3±0,33
24 часа	28,0±0,86

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

Таблица 5.8 – Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на двигательную координацию мышей в зависимости от времени в тесте «Актометр» (M±m)

Тестируемые образцы	«Актометр» (кол-во переходов)
Контроль (дис.вода)	264,7±15,31
Диазепам	193,7±8,26
ДАБ-21	
0,5 час	268,5±18,76
1 час	275,7±16,64
2 часа	295,3±19,54
4 часа	293,8±12,74
8 часов	274,3±24,89
12 часов	289,3±20,92
24 часов	286,8±24,03

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

Таблица 5.9 – Влияние вещества ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на мышечный тонус мышей в зависимости от времени в тестах «Сетка» и «Проволока» (M±m)

Тестируемые образцы	«Сетка», баллы	«Проволока», баллы
Контроль (дис.вода)	4,0±0,01	4,0±0,01
Диазепам	3,2±0,17*	3,3±0,21*
ДАБ-21		
0,5 час	3,8±0,17	3,7±0,21
1 час	3,8±0,17	3,8±0,17
2 часа	3,8±0,17	3,8±0,17
4 часа	3,8±0,17	3,8±0,17
8 часов	4,0±0,01	3,8±0,17
12 часов	4,0±0,01	3,8±0,17
24 часов	4,0±0,01	3,8±0,17

Примечания:

* - отличия от группы контроля статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна).

В результате изучения влияния соединения ДАБ-21 на развитие миорелаксации в зависимости от времени можно сделать вывод, что соединение ДАБ-21 на протяжении 24 часов с момента внутрижелудочного введения вещества не приводит к возникновению выраженной миорелаксирующей активности, характерной для классических бензодиазепиновых транквилизаторов.

5.6. Заключение

В результате изучения фармакодинамических свойств производного диазепино[1,2-α]-бензимидазола 11 - [(2 – пирролидин – 1 – ил) – этил] - 2, 3, 4, 5 - тетрагидро [1 ,3] - диазепино[1,2-а]-бензимидазол дигидрохлорид - под шифром ДАБ-21 было установлено, что данное соединение помимо анксиолитической активности, изученной ранее, проявляет и другие типы нейропсихотропных свойств.

Соединение ДАБ-21 статистически значимо снижает проявление навязчивых состояний (обсессий) у исследуемых животных в тесте «Закапывание шариков».

Животные, под действием ДАБ-21 проявляют статистически менее выраженную агрессивность, относительно групп контроля и диазепама, в тесте «Резидент – интрудер».

Анализируя полученные данные по изучению антидепрессивной активности в трех проведенных тестах «Принудительное плавание по Porsolt» (мыши), «принудительное плавание по Porsolt» (крысы), «подвешивание за хвост» можно сделать предположение, что соединение ДАБ-21 проявляет антидепрессивное действие.

В результате изучения анальгетической активности соединения ДАБ-21 в тестах «Горячая пластина» и «Отдергивание хвоста» было установлено, что изучаемое соединение блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном уровне (тест «Горячая пластина»), полученные данные исследуемого вещества соответствуют данным препарата буторфанола, и не влияет на спинальный уровень ноцицепции (тест «Отдергивания хвоста»).

В результате изучения влияния ДАБ-21 на миорелаксирующие свойства в зависимости от времени в тестах «Ротарод», «Актометр», «Сетка» и «Проволока» можно сделать вывод, что соединения ДАБ-21 на протяжении 24 часов с момента внутрижелудочного введения вещества не приводит к возникновению выраженной миорелаксирующей активности, характерной для классических бензодиазепиновых транквилизаторов.

ГЛАВА 6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЯ ДАБ-21 С ОСНОВНЫМИ АГОНИСТАМИ / АНТАГОНИСТАМИ РАЗЛИЧНЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ

У некоторых производных бензимидазола обнаружены различные по силе и типу действия: противомигренозные (Яковлев Д.С. и др., 2019), психостимулирующие (Анисимова В.А. и др., 2012), антидепрессантные (Tantray M. A. et al., 2018), транквилизирующие (Спасов А.А. и др., 2018) и противосудорожные (Спасов А.А. и др., 2018). Показано, что дибазол и 5,6-диметил-бензимидазол (димедазол, димезол) устраняют некоторые неврологические нарушения при экспериментальной травме головного мозга и могут быть использованы для профилактики болевого шока (Гамма Т. В. и др., 2003). Ряд производных 2-аминобензимидазола – пропиламид N-2-(1-бутилбензимидазолил) сукцинаминовой кислоты и бензиламид N-2-(1-бутилбензимидазолил) сукцинаминовой кислоты угнетают поведенческую активность экспериментальных животных, увеличивают длительность этаминалового сна и проявляют другие свойства, характерные для аминазина (Спасов А.А. и др., 2002). Так же, для производного бензимидазола - соединения РУ-31- характерно серотонин-опосредованное ГАМК-миметическое действие (Агацарская Я. В. и др., 2019).

Для производных диазепина и азепина характерны транквилизирующие свойства. Например, карбамазепин (5Н-дибензоазепин-5-карбоксамид) проявляет доказанное противосудорожное и противоэпилептическое действие (Нечаев М. О. и др., 2017). Имипрамин (N-(3-диметиламинопропил)-иминодибензила гидрохлорид или 5 - (3 - диметил-аминопропил) - 10 , 11 - дигидро – 5 Н - дибензо - [b,f]-азепина гидрохлорид) имеет выраженное антидепрессивное действие (Данилов Д. С., 2019), одновременно блокирует захват норадреналина, дофамина, серотонина и других нейромедиаторов, что приводит к их накоплению в синаптической щели и в результате к усилению физиологического эффекта. Проявляет также холинолитическую активность. Для производных диазепина так же характерны антипсихотические свойства (нейролептические), например, клозапин (8-Хлор-11-(4-метил-1-пиперазинил) - 5Н-дибензо-[b, e] [1,4]-диазепин) имеет сильную антипсихотическую, умеренно антиманиакальную и умеренно трициклик-подобную (связанной с влиянием на обратный захват моноаминов) антидепрессивную активность в сочетании с выраженным снотворным, седативным и противотревожным действием (Данилов Д. С., 2011). Блокирует различные подтипы дофаминовых (D_1, D_2, D_3, D_4, D_5), серотониновых (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{1C}), мускариновых (M_1, M_2, M_3, M_5), гистаминовых (H_1) и адрено- (α1, α2) рецепторов; проявляет свойства агонизма к M_4-рецепторам. Так же у многих производных диазепина выражена анксиолитическая активность, диазепам взаимодействует со специфическими бензодиазепиновыми рецепторами, расположенными в постсинаптическом $ГАМК_A$-

рецепторном комплексе в лимбической системе мозга, таламусе, гипоталамусе, восходящей активирующей ретикулярной формации ствола мозга и вставочных нейронах боковых рогов спинного мозга. Повышает чувствительность ГАМК-рецепторов к медиатору (ГАМК), что обусловливает повышение частоты открытия в цитоплазматической мембране нейронов каналов для входящих токов ионов хлора. В результате происходит усиление тормозного влияния ГАМК и торможение межнейронной передачи в соответствующих отделах ЦНС.

Таким образом, в результате большого разнообразия спектров фармакологической активности привилегированных подструктур, входящих в состав изучаемого соединения - производного диазепино[1,2-a] бензимидазола ДАБ-21, становится очевидна необходимость проведения фармакологического анализа на возможность проявления иных нейромедиаторных взаимодействий.

6.1. Взаимодействие соединения ДАБ-21 с лигандами нейромедиаторных систем *in vivo*

Стратегия исследования фармакодинамических свойств соединения ДАБ-21 предполагала несколько этапов: более детальное изучение и уточнение возможных механизмов действия вещества и последующее изучение предполагаемой специфической фармакологической активности с учетом выявленных механизмов.

При исследовании возможного влияния соединения ДАБ-21 на нейромедиаторные системы использовались методики *in vivo*, позволяющие оценить активность в отношении холинергической, дофаминергической, адренергической, ГАМК-ергической, бензодиазепиновой и серотонинергической систем. Изучена МАО-ингибирующая активность.

6.1.1. Оценка влияния флумазенила на эффекты соединения ДАБ-21 в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

У группы исследуемых животных, которым вводился флумазенил совместно с веществом ДАБ-21, было зарегестрировано снижение анксиолитического эффекта по ряду регистрируемых параметров (Таблица 6.1). Так, общее количество переходов снижалось относительно группы животных, которым вводилось только соединение ДАБ-21 в 3 раза ($p \leq 0,05$), и было сопоставимо с данными группы флумазенил+диазепам, также количество переходов было ниже аналогичного параметра группы диазепама в 2,5 раза ($p \leq 0,05$), но в 1,7 раз выше ($p \leq 0,05$) относительно группы контроля. Время нахождения в открытом рукаве группы флумазенил+ДАБ-21 снизилось относительно группы вещества ДАБ-21 в 8,5 раз ($p \leq 0,05$), а относительно группы диазепама в 7,6 раза ($p \leq 0,05$), и было сопоставимо с данными как группы контроля, так и группы флумазенил+диазепам. По количеству выходов в открытый рукав группа флумазенил+ДАБ-21 показала результат, уступающий животным группы ДАБ-21 в 6,9 раза (p≤0,05), а группе диазепама в 5,7 раза (p≤0,05), значения исследуемой группы находились на уровне показателей контроля.

Таблица 6.1 – Влияние антагониста бензодиазепиновых рецепторов – флумазенила (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при однократном введении соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) (M ± m)

Тестируемые образцы	Количество переходов (общее)	Время нахождения в открытом рукаве (с)	Количество выходов в открытый рукав.	Количество свешиваний	Количество болюсов
Контроль	2,2±0,40	13,5±6,17	0,7±0,33	5,0±0,52	2,5±72
Диазепам	9,3±0,42*	100,8±5,68*	4,0±0,45*	16,7±0,88	0,2±0,17*
Флумазенил + Диазепам	3,3±0,80	5,5 ± 5,5	0,3 ± 0,33	3,2±0,87	0,7±0,33
ДАБ-21	11,5±0,76*	112,0±6,65*	4,8±0,17*	19,5±1,38*	0,2±0,17*
Флумазенил + ДАБ-21	3,8±0,75	13,2±9,60	0,7±0,42	3,8±0,87	0,8±0,31

Примечания:

* - изменения достоверны по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскелла- Уоллиса).

Количество свешиваний животных, которым вводили флумазенил+ДАБ-21, уступало ДАБ-21 в 5,1 раза (p≤0,05), а группе диазепама - в 4,4 раза (p≤0,05), полученные значения показывают результат, сопоставимый с группами контроля и флумазенил+диазепам. По результатам тестирования, проведенного с антагонистом бензодиазепиновых рецепторов – флумазенилом, было установлено нивелирование анксиолитического эффекта соединения ДАБ-21 у мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», что скорее всего связано с влиянием исследуемого вещества на бензодиазепиновый рецептор.

6.1.2. Действие соединения ДАБ-21 на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана

Внутрибрюшинное введение 5-гидрокситриптофана приводит к возникновению гиперкинезии у экспериментальных животных, которая проявляется в периодических встряхиваниях головой. Механизм данного эффекта связан с увеличением серотонинергической нейропередачи в мозге путём стимуляции 5-HT$_2$-серотониновых рецепторов (Peroutka S. J., Snyder S.H., 1981).

В контрольной группе животных максимальное количество встряхиваний головой отмечалось на 20 минуте после введения 5-ГТФ (Таблица 6.2). В дальнейшем уровень гиперкинеза снижался. Соединение ДАБ-21 в тесте 5-гидрокситриптофанового гиперкинеза достоверно влияло на количество встряхиваний головой мышей, отражающее уровень гиперкинеза животных. Так, соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг достоверно увеличивало эффекты 5-гидрокситриптофана уже на 30 минуте после введения 5-ГТФ.

Таблица 6.2 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана (в дозе 300 мг/кг, внутрибрюшинное введение) (M±m)

Тестируемые образцы	Количество встряхиваний головой	
Мин.	Контроль (5-ГТФ)	ДАБ-21 + 5-ГТФ
10	9,8± 1,92	14,3± 4,12
20	12,2± 4,42	16,7± 2,49
30	6,8± 2,86	14,3± 3,04
40	1,5± 0,56	11,5± 3,87*
50	0,2± 0,17	6,0± 3,80
60	0,2± 0,17	5,8± 3,69

Примечания:

* - изменения достоверны по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскелла- Уоллиса).

Таким образом, в результате изучения действия соединения ДАБ-21 на выраженность эффектов 5-гидрокситриптофана была показана серотонинергическая активность.

6.1.3. Влияние соединения ДАБ-21 на выраженность ареколинового тремора

Центральные холиномиметики, такие как ареколин, оксотреморин вызывают развитие гиперкинеза, судорог, гипотермии и других эффектов, что может быть использовано для выявления центрального М-холинергического действия изучаемых веществ (Андреева Н.И., 2005).

В контрольной группе животных посредством известного стимулятора М холинорецепторов – ареколина у мышей отмечались гиперсаливация и тремор. Латентный период возникновения тремора в контрольной группе был около 70 секунд (Таблица 6.3), длительность составляла более 8,3 минут. У животных под действием соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг статистически медленнее развивался латентный период возникновения ареколинового тремора в отличие от контроля в 1,3 раза (p≤0,05). Влияние на длительность тремора у мышей соединение ДАБ-21 не оказывало.

Таблица 6.3 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на выраженность ареколинового тремора у мышей (ареколин в дозе 15 мг/кг, внутрибрюшинное введение) (M ± m)

Тестируемые образцы	Контроль (ареколин)	ДАБ-21 + ареколин
Латентный период возникновения тремора (сек)	72,5±4,67	94,5±6,65*
Длительность тремора (сек)	489,5±24,71	427,3±65,11

Примечания:
* - изменения достоверны по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла- Уоллиса);

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что соединение ДАБ-21 способно незначительно изменять центральные М-холинергические эффекты ареколина, что может свидетельствовать об отсутствии значимого влияния на центральную М-холинергическую нейропередачу.

6.1.4. Изменение эффектов фенамина при введении соединения ДАБ-21

Так как фенамин способен влиять на дофаминергическую передачу (Островская Р.У., Раевский К.С., Воронина Т.А., 2012), при внутрибрюшинном введении в контрольной группе животных за счет усиления активности, указанной нейромедиаторной системы, приводил к возникновению беспокойства и стереотипного поведения. Латентный период развития беспокойства опытной группы был равен показателю контроля (Таблица 6.4). Длительность беспокойства животных, которым вводили ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, была статистически больше, чем у контрольной группы в 2,2 раза ($p \leq 0,05$).

При изучении влияния соединения ДАБ-21 на продолжительность стереотипного поведения у животных отмечалось существенное его увеличение в 2,7 раза. Таким образом, по результатам эксперимента установлено, что для соединения ДАБ-21 отмечалось увеличение длительности стереотипии животных вызванной действием фенамина, что может свидетельствовать о влиянии соединения ДАБ-21 на обратный захват дофамина, норадреналина и серотонина.

Таблица 6.4 – Изменение эффектов фенамина (в дозе 5,0 мг/кг, внутрибрюшинное введение) при введении соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг при внутрижелудочном введении) (M±m)

Тестируемые образцы	Латентный период возникновения беспокойства (мин)	Длительность беспокойства (мин)	Длительность стереотипии (мин)
Контроль (фенамин)	5,4±0,86	1,6±0,13	218,4±24,05
ДАБ-21 + фенамин (5,0 мг/кг)	5,1±0,40	3,5±0,58*	596,7±3,80*

Примечания:
* - изменения достоверны по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскелла- Уоллиса).

6.1.5. Действие соединения ДАБ-21 на эффекты L-ДОФА

По результатам проведенного исследования установлено, что L-ДОФА после введения в дозе 500 мг/кг (Контроль 1) приводила к повышению двигательной активности мышей с элементами стереотипного поведения. Максимальная выраженность эффекта была отмечена на 30 минуте после введения L-ДОФА (Таблица 6.5), когда интенсивность стереотипии достигала 2,3 балла по 3-х балльной шкале. При введении L-ДОФА в дозе 100 мг/кг (Контроль 2) эффектов, характерных для высоких доз, отмечено не было. Соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг на 30 минуте незначительно потенцировало эффект малых доз L-ДОФА. На основании полученных данных можно сделать вывод, что соединение ДАБ-21 проявляет статистически незначительное МАО-ингибирующее действие, основанное на потенцировании эффектов L-ДОФА.

Таблица 6.5 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на эффекты L-ДОФА (M±m)

Время	Выраженность стереотипии, баллы		
Мин.	Контроль 1 (L-ДОФА 500 мг/кг)	Контроль 2 (L-ДОФА 100 мг/кг)	ДАБ-21 + L-ДОФА 100 мг/кг
30	2,3±0,33	0,0±0,01*	1,3±0,33
60	1,7±0,33	0,0±0,01*	0,5±0,22
90	1,2±0,17	0,0±0,01*	0,5±0,34

Примечания:
* - изменения достоверны по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскелла- Уоллиса).

6.1.6. Влияние соединения ДАБ-21 на выраженность эффектов никотина

В ходе данного теста после введения никотина в дозе 2 мг/кг животным контрольной группы №1 (группа интактных животных, которым вводилась низкая доза никотина, приводившая к возникновению тремора, но еще не способная приводить к судорогам) наблюдалось развитие тремора, что связано с усилением нервно-мышечной передачи (Таблица 6.6).

Таблица 6.6 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на выраженность эффектов низкой пороговой дозы (2 мг/кг, внутрибрюшинное введение) и высокой дозы (4 мг/кг, внутрибрюшинное введение) никотина у мышей (M±m)

Исследуемые параметры	Контроль 1 никотин 2 мг/кг	Контроль 2 никотин 4 мг/кг	ДАБ-21 + никотин 2 мг/кг	ДАБ-21 + никотин 4 мг/кг
Количество животных у которых возник тремор (%)	100	100	100	100
Количество животных у которых возникли судороги (%)	0	100#	0	100#

Примечания:

внутрижелудочное введение ДАБ-21 за 30 мин до введения никотина;

* – отличия по отношению к контрольной группе 1 статистически значимы ($p \leq 0,05$, критерия Краскела-Уолиса с постобработкой тестом Даннета).

Мышам из группы контроля №2 вводилась высокая доза Н-холиномиметика (минимальная доза никотина, приводившая к возникновению судорожных припадков у 100% животных), 4 мг/кг, что дополнительно приводило к возникновению судорог у всех животных в изучаемой группе. Для соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг не наблюдалось усиление эффектов никотина в низкой дозе, ни у одного животного не возникало судорог. Также для соединения ДАБ-21 не отмечено снижения эффектов никотина в дозе 4 мг/кг. Таким образом, соединение ДАБ-21 не приводило к изменению возникновения судорог у животных под воздействием Н-холинергического влияния никотина. Таким образом, в тесте никотиновых судорог не было выявлено влияния соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг на Н-холинорецепторы как в дозе никотина в 2 мг, так и 4 мг.

6.1.7. Оценка действия соединения ДАБ-21 на выраженность стереотипного поведения крыс, вызванного апоморфином

В результате полученных данных апоморфин приводил к возникновению стереотипного поведения у животных. Так, на 30 минуте после введения дофаминового агониста у группы контроля было показано набольшее значение – 1,6 балла, дальнейшее наблюдение показывало постепенное снижение эффектов апоморфина (Таблица 6.7).

Таблица 6.7 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на выраженность стереотипного поведения крыс, вызванного апоморфином (в дозе 1мг/кг, внутрибрюшинное введение) (M±m)

Время	Выраженность стереотипии, баллы	
Мин.	Контроль (апоморфин)	ДАБ-21 + апоморфин
30	1,6±0,25	1,0±0,32
60	1,6±0,25	1,2±0,49
90	1,4±0,25	1,0±0,32
120	0,6±0,25	0,4±0,25

Примечания:

* – изменения статистически значимы по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Манна-Уитни).

Соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг не изменяло выраженность апоморфинового ответа у животных. Таким образом, по результатам эксперимента установлено, соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг не приводило к изменению действия апоморфина, что свидетельствует об отсутствии влияния изучаемого вещества на центральные звенья дофаминергической системы.

6.1.8. Изменение каталептогенного эффекта галоперидола при введении соединения ДАБ-21

Галоперидол при внутрибрюшинном введении в контрольной группе животных приводил к возникновению каталепсии, к продолжительной модификации ряда нейрофизиологических и нейрохимических показателей. Нигрострионигральная система вовлечена в регуляцию двигательной активности, сложных форм поведения. Традиционно за показатель блокады дофаминергической передачи в структурах головного мозга принимают нарушение тонуса мышц нейролептиками, в том числе галоперидолом. Ослабление каталепсии, вызванной галоперидолом, обясняют снижением в стриатуме плотности и чувствительности функционирующих дофаминергических рецепторов. Крысы на фоне галоперидола определенное время способны сохранять вертикальное либо иное каталептогенное положение. Проявление такой симптоматики является характерной чертой для типичных нейролептиков.

Максимальный эффект отмечался на 60 минуте исследования и соответствовал максимальному баллу (Таблица 6.8). Соединение ДАБ-21 в изучаемой дозе не оказывало статистически выраженного влияния на каталептический эффект галоперидола в интервале от 15 до 60 минут. Было замечено, что на 120 минутной точке регистрации животные под действием

ДАБ-21 показывают снижение каталептического действия относительно контроля в 1,7 раз ($p \leq 0,05$). Таким образом, влияние соединение ДАБ-21 на проявление дофаминергического эффекта галоперидола было статистически значимо.

Таблица 6.8 – Изменение каталептогенного эффекта галоперидола (в дозе 3 мг/кг, внутрибрюшинное введение) при введении соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) (M±m)

Время	Выраженность каталепсии, баллы	
Мин.	Контроль (галоперидол)	ДАБ-21 + галоперидол
15	2,2±0,54	1,3±0,49
30	2,5±0,22	2,5±0,22
45	2,7±0,21	2,2±0,31
60	3,0±0,01	2,2±0,40
120	2,7±0,33	1,5±0,22*

Примечания:

* – изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Манна-Уитни).

6.1.9. Изменение гипотермического эффекта клофелина при введении соединения ДАБ-21

По полученным результатам α_2-адреномиметик клофелин в контрольной группе уже на 30 минуте приводил к снижению температуры по сравнению с группой интактного контроля. Так, изучаемый показатель опускался на 1 ºС. В опытных группах соединение ДАБ-21 существенного влияния на эффекты модулятора адренергической системы не оказывало (Таблица 6.9). По результатам теста можно сделать вывод, что изучаемое вещество в исследуемой дозе не влияет на эффекты клофелина, что свидетельствует об отсутствии взаимодействия с адренергической нейромедиаторной системой.

Таблица 6.9 – Изменение гипотермического эффекта клофелина (в дозе 0,1 мг/кг, внутрибрюшинное введение) при введении соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) (M±m)

Время	Ректальная температура, ºC		
Мин.	Интактный контроль	Контроль (клофелин)	ДАБ-21 + клофелин
0	38,0±0,04	38,1±0,07	37,9±0,03
30	37,9±0,05	37,2±0,05*	37,2±0,23
60	37,9±0,17	37,1±0,10*	37,5±0,15
90	37,9±0,02	37,2±0,14*	37,4±0,11*
120	37,7±0,16	37,2±0,10*	37,5±0,15

Примечания:

* – изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p \leq 0{,}05$, критерий Краскела-Уолиса с постобработкой критерием Данна).

6.1.10. Влияние соединения ДАБ-21 на эффекты пикротоксина

В ходе настоящего исследования пикротоксин в дозе 5 мг/кг опосредовал возникновение тремора и судорог. Так, латентный период возникновения тремора составил более 5 минут (Таблица 6.10). Первый приступ клонических судорог (латентный период возникновения судорог) у животных в группе контроля в среднем возникал через 8,6 минут после введения пикротоксина. За период наблюдения в контрольной группе количество приступов судорог было более 8 повторений. В группах с предварительным введением соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг не отмечалось достоверного изменения латентного периода возникновения как тремора, так и приступа судорог. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг не проявляет способность снижать эффекты пикротоксина, что может свидетельствовать об отсутствии прямого ГАМК-миметического действия изучаемого соединения.

Таблица 6.10 – Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на эффекты пикротоксина (в дозе 5 мг/кг, внутрибрюшинное введение) (M±m)

Исследуемые параметры	Контроль (пикротоксин)	ДАБ-21 + пикротоксин
Латентное время возникновения тремора(с)	323,7±15,16	350,3±68,62
Латентное время возникновения судорог (с)	372,0 ±18,46	398,5±50,81
Количество судорог (ед.)	12,83±3,18	7,1±0,70

Примечания:

* – изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Манна-Уитни).

6.1.11. Действие соединения ДАБ-21 на эффекты резерпина

В группе интактных животных показатель ректальной температуры не изменялся. У мышей из контрольной группы, которым вводили резерпин отмечалось снижение температуры в среднем на 0,8 ºС через 4 и 4,5 часа соответственно. Соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг статистически снижало гипотермические эффекты резерпина (Таблица 6.11) в 4 часовой точке показатель ректальной температуры опытной группы относительно группы резерпина был выше на 0,3ºС, а в 4,5 часа на 0,8 ºС. Таким образом, можно сделать вывод, что влияние соединения ДАБ-21 на гипотермическое действие резерпина в опыте статистически не значимо.

На основании данных, полученных в тесте «резерпиновая гипотермия» не было выявлено значимого влияния соединения ДАБ-21 на адренергические эффекты, что позволяет предположить отсутствие у изучаемого вещества адренергической активности.

Таблица 6.11 – Изменение эффектов резерпина (в дозе 2,5 мг) при введении соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) (M±m)

	Ректальная температура, ºС		
Время измерения	Интактный контроль	Контроль (резерпин)	ДАБ-21 + резерпин
0 (исход)	38,1±0,04	38,1±0,04	38,0±0,01
4 часа	38,1±0,05	37,3±0,90*	37,6±0,85*
4,5 часа	38,1±0,03	37,4±0,92*	37,8±0,10

* – изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Краскела-Уолиса с постобработкой критерием Данна).

6.2. Заключение

В результате изучения взаимодействия исследуемого соединения с основными агонистами / антагонистами различных нейромедиаторных систем, было выяснено что ДАБ-21 способен изменять эффекты некоторых индукторов (Таблица 6.12).

На основании полученных данных эксперимента, проведенного с антагонистом бензодиазепиновых рецепторов – флумазенилом, было показано снижение анксиолитической активности соединения ДАБ-21, в результате чего можно предположить взаимодействие исследуемого вещества с бензодиазепиновым рецептором.

Изучаемое соединение не показало способность снижать эффекты пикротоксина. В результате чего можно сделать вывод, что исследуемое соединение не обладает прямым ГАМК-миметическим действием, возможно присутствует аллостерическая модуляция ГАМК-рецепторного комплекса.

Соединение ДАБ-21 достоверно увеличивало эффекты 5-гидрокситриптофана, отмечалось выраженное повышение количества проявлений специфических гиперкинезов «встряхивания головы» относительно показателей группы контроля. Полученные результаты подтверждают наличие у изучаемого соединения моноаминергческого действия.

Соединение ДАБ-21 не меняло центральные М-холинергические эффекты ареколина и не приводило к изменению возникновения судорог у животных под воздействием Н-холинергического влияния никотина. Это может свидетельствовать об отсутствии действия ДАБ-21 на холинергическую нейропередачу.

Изучаемое вещество статистически значимо увеличивало действие фенамина, незначительно потенцировало эффекты L-ДОФА, снижало каталептический эффект, галоперидола и не показало статистически значимого взаимодействия с апоморфином. Полученные результаты позволяют предполагать наличие влияния на дофаминовую нейропередачу, но вместе с тем требуют более детального изучения нейротоксикологического профиля ДАБ-21.

Соединение ДАБ-21 не влияет на эффекты клофелина и резерпина, что в совокупности тестов свидетельствует об отсутствии в механизие действия адренергического звена.

Таблица 6.12 – Взаимодействие соединения ДАБ-21 с агонистами/ антагонистами различных нейромедиаторных систем

Регистрируемый показатель	Исследуемое вещество
	ДАБ-21
	Полученный эффект
Холинергическая система	
Никотиновый тремор, никотиновые судороги	отсутствие
Ареколиновый тремор	отсутствие
Адренергическая система	
Клофелиновая гипотермия	Отсутствие
Резерпиновая гипотермия	Отсутствие
Дофаминергическая система	
Галоперидоловая каталепсия	↓
Апоморфиновая стереотипия	Отсутствие
Фенаминовая стереотипия	↑
Стереотипия, вызванная L-ДОФА	0/↑
Серотонинергическая система	
5-ГТФ гиперкинез	↑
ГАМК-ергическая система	
Пикротоксиновые судороги	отсутствие
Флумазенил	$\downarrow^{\Delta}$

Примечание: ДАБ-21 изучен при внутрижелудочном введении.

↑ - усиление эффекта;

↓ - ослабление эффекта;

0/↑ - слабо выраженное усиление эффекта;

$\downarrow^{\Delta}$ - нивелирование анксиолитического эффекта ДАБ-21.

ГЛАВА 7. ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ СОЕДИНЕНИЯ ДАБ-21

Известно, что существующие транквилизаторы имеют широкий перечень серьезных побочных эффектов (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014), наиболее значимыми из которых являются развитие зависимости, аддикция и миорелаксация (Спасов А.А. и др., 2018).

В странах, в которых осуществляется систематический мониторинг злоупотреблений использования лекарственных препаратов рецептурного отпуска, установлено, что такие лекарственные средства в основном относятся к числу психоактивных веществ, которые чаще, чем наркотические средства, вызывают опасность для жизни в результате их побочных эффектов. По данным Международного комитета Красного Креста, практически в каждой стране отмечается злоупотребление транквилизирующими препаратами, при этом наиболее часто упоминаемыми веществами являются бензодиазепины, в частности алпразолам, клоназепам, диазепам и флунитразепам.

Медицинскими показаниями для применения производных бензодиазепина являются – бессонница, тревожные расстройства, эпилепсия, алкогольный абстинентный синдром и др., однако длительный прием бензодиазепинов может привести к зависимости и злоупотреблению (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014). Легкая зависимость возникает у многих больных, регулярно принимающих терапевтические дозы бензодиазепинов. Отмена препаратов вызывает временное усиление симптомов, послуживших показанием к его назначению (бессонница, тревожность). Возможны раздражительность, потливость, кошмары, тремор, слабость, особенно при резкой отмене. Риск злоупотребления производными бензодиазепина наиболее высок при алкоголизме или наркомании в анамнезе (Сычев Д. А. и др., 2019), такие больные часто добавляют производные бензодиазепина для усиления действия других веществ (алкоголя и наркотических анальгетиков) или уменьшения действия их токсичности (например, кокаина). Длительный прием более высоких доз лекарственных препаратов производных бензодиазепина, вызывает тяжелый абстинентный синдром, включая возбуждение, депрессию, панику, паранойю, миалгию и даже эпилептические припадки и делирий. По ряду источников на территории РФ злоупотребление ЛП, производными бензодиазепина, в большинстве случаев связаны с отравлениями этими ЛП (Менделевич В. Д., 2019) особое место среди которых занимает бромдигидрохлорфенилбензодиазепин (феназепам). Отравления бензодиазепинами выделены в МКБ – 10 (Класс XIX, Т42.2) в виде самостоятельной нозологической формы и отмечаются как у взрослых, так и у детей, в том числе при попытке суицида, что связано с доступностью данных препаратов. Один из самых распространенных видов суицидального поведения – это умышленное самоотравление лекарственными препаратами, при этом чаще всего с целью отравления использовались производные бензодиазепина, которые были представлены большей частью феназепамом (55%) (Порсева Н. Ю., Дворская О.Н., Солонинина А.В., 2013), ввиду широкой безрецептурной доступности данного препарата в нашей стране.

В отличие от производных бензодиазепина, производные бензимидазола, например, дневной анксиолитик фабомотизол, отличаются менее выраженными негативными эффектами. Фабомотизол по химической структуре относится к производным меркаптобензимидазола (2-[-2-(морфолино)-этил]-тио-5-этоксибензилимидазола дигидрохлорид) и не является агонистом ни основного ГАМК-сайта, ни бензодиазепинового, барбитурового или нейростероидного сайтов ГАМК-рецепторов. По ряду источников исследователи связывают действие фабомотизола с сигма-рецепторами (Voronin M. V., Kadnikov I.A., 2016). Среди возможных побочных эффектов данного препарата описаны головная боль и аллергические реакции. В отличие от бензодиазепиновых анксиолитиков фабомотизол не вызывает миорелаксации, атаксии (нарушения походки), нарушений координации движений, речи, не дает чувства опьянения, не вызывает сонливости, не проявляет седативных эффектов (Краснов В. Н. и др., 2007). Кроме того, фабомотизол в отличие от бензодиазепиновых анксиолитиков не вызывает ухудшения когнитивных функций, нарушений памяти и концентрации внимания, а, напротив, склонен проявлять легкие ноотропные и про-когнитивные свойства, имеет низкую токсичность. Фабомотизол не имеет зависимости и не дает синдрома отмены при прекращении его приема, а феномен рикошета при прекращении его приема слабо выражен или отсутствует (Беккер Р. А., Быков Ю.В., 2017).

Ввиду того, что базовая химическая структура соединения ДАБ-21 состоит из бензимидазольного и диазепинового фрагментов, предполагается снижение или нивелирование большого количества нейропсихотропных побочных эффектов, присущих бензодиазепиновым производным, а также предполагается наличие низкой токсичности.

7.1 Изучение острой токсичности соединения ДАБ-21

При изучении острой токсичности на белых беспородных мышах при однократном внутрижелудочном пути введения исследуемого соединения ДАБ-21 в дозе 1300 мг/кг вызывало 100 % гибель животных. Аналогичное введение изучаемого вещества в дозе 1000 мг/кг приводило к летальному исходу 66 % мышей. Введение соединения ДАБ-21 в дозе 700 мг/кг приводило к гибели 33 %, а в дозе 500 мг/кг к 16 % летального исхода у животных. При введении мышам вещества ДАБ-21 в дозах 300мг/кг, 200 мг/кг, 100 мг/кг, 50 мг/кг и 25 мг/кг не приводило к гибели животных.

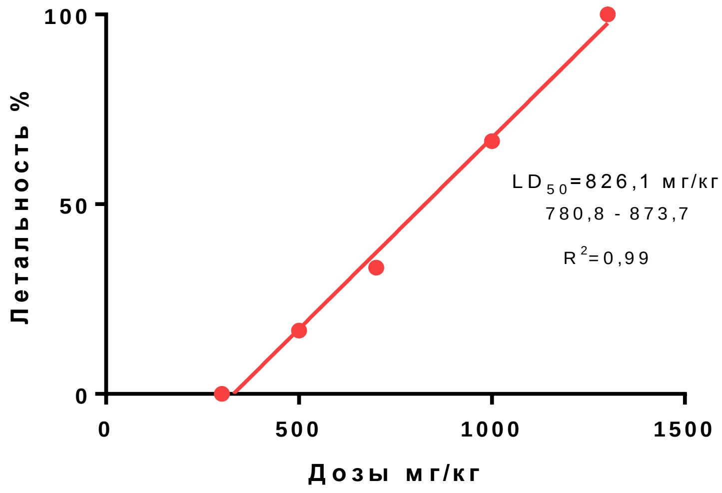


Рисунок 7.1 - Зависимость показателя летальности от дозы исследуемого вещества ДАБ-21.

В сублетальных дозировках при введении экспериментальных веществ регистрировалось возникновение клонических и тонических судорог у исследуемых животных, припадки по типу эпилептических, также у мышей развивались значительные седация и нарушение дыхания. Описанная картина гибели имеет относительное сходство с развитием токсических эффектов для классических бензодиазепиновых анксиолитиков (диазепам). В ходе проведенного исследования была получена величина LD_{50} исследуемого соединения, представленные в таблице (Таблица 7.1, Рисунок 7.1). Средняя смертельная доза исследуемого соединения, подтверждает, что вещество по уровню изучаемого эффекта статистически превосходит препарат сравнения диазепам. Исходя из представленных расчетов границ $ЛД_{50}$ и с учетом классификации токсичности по И.В.Березовской и И.В. Саноцкого, можно заключить, что изучаемое соединение ДАБ-21 в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 может быть отнесено к 3 классу токсичности, что соответствует умеренно токсичным веществам.

Таблица 7.1 – Величина острой токсичности соединения ДАБ-21 и диазепама при однократном внутрижелудочном введении мышам

Тестируемые образцы	LD_{50} мг/кг
Диазепам	700^{Δ}
ДАБ-21	826,1

Примечания:

$^{\Delta}$ LD_{50} препарата сравнения диазепама было получено из литературного источника INCHEM[2]

[2] http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/pim181.htm#PartTitle:8.%20%20TOXICOLOGICAL%20ANALYSES%20AND%20BIOMEDICAL%20INVESTIGATIONS

7.2. Нейротксические эффекты соединения ДАБ-21 при введении различных доз изучаемого вещества в многопараметровом нейротоксикологическом тесте по S.Irwin

ДАБ-21 вводили мышам внутрижелудочно (металлическим зондом) в ранее изученной дозе – 1,26 мг/кг, а также в 20-, 50- и 100- кратных дозах.

У животных, получавших ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, не наблюдалось значимых изменений во всех изучаемых показателях данного многопараметрового тестирования (Таблица 7.2, 7.3, 7.4).

При увеличении дозы соединения ДАБ-21 в 20 раз (25 мг/кг), регистрируемые параметры, характеризующие вегетативные реакции и нервно-мышечную возбудимость (Таблица 7.3, 7.4), соответствовали установленной для данной тест-системы норме. При изучении поведенческих реакций (Таблица 7.2) было замечено снижение количества груминга и спонтанной двигательной активности мышей относительно контроля на 120 – минутной точке регистрации, но данные параметры вероятнее всего имели тенденцию к снижению в результате более полного изучения животными тестовой установки к данному периоду эксперимента, в отличие от исходной и 60 – минутной точек регистрации. К тому же, данная тенденция к снижению показателей количества груминга и спонтанной двигательной активности не подтвердилась в более высокой изучаемой дозе.

У животных, получавших соединение ДАБ-21 в дозе в 50 раз превышающей 1,26 мг/кг (63 мг/кг) при изучении поведенческих реакций было зарегестрировано снижение спонтанной двигательной реакции на 60 минуте, но на 120 минуте данный параметр соответствовал норме. В результате изучения вегетативных и нервно-мышечных реакций статистических различий зарегестрировано не было. При увеличении изучаемой дозы в 100 раз (126 мг/кг) было отмечено увеличение показателя поведенческой реакции – вокализации (Таблица 7.2) на 60 - минутной точке, но к 120-минутному интервалу данный показатель соответствовал норме. При изучении параметров характеризующих нервно-мышечную возбудимость исследуемых животных было замечено увеличение показателя реакции на прикосновение на 60-минутной точке исследования на 0,5 баллов (Таблица 7.3). Но к следующему 120-минутному интервалу регистрации данный параметр соответствовал норме. Среди показателей, характеризующих вегетативные эффекты, было зарегистрировано статистическое развития птоза у опытной группы животных на 60-минутном интервале, исчезающем к 120 минуте. (Таблица 7.4).

Обобщая полученные результаты можно сделать заключение (Таблица 7.5) об отсутствии значимого нейротоксического влияния соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, а также дозах, превышающих данную в 20 (25 мг/кг), 50 (63 мг/кг) и 100 (126 мг/кг) раз. В течение всего наблюдения за животными, получавшими ДАБ-21, после окончания многопараметрового тестирования, летальности зарегистрировано не было.

Таблица 7.2 – Влияние соединения ДАБ-21 на нейротоксические эффекты мышей при внутрижелудочном введении различных доз изучаемого вещества – ДАБ-21 в многопараметровом нейротоксикологическом тесте по S.Irwin (M±m)

Баллы	Норма	Время наблюдения (мин)														
		Контроль			ДАБ-21											
					1,26 мг/кг			25 мг/кг			63 мг/кг			126 мг/кг		
		Исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин
Поведенческие реакции																
Вокализация	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,2±0,17	0,0±0,01	0,0±0,01	0,2±0,17	0,0±0,01	0,0±0,01	0,2±0,17	0,0,±0,01
Настороженность	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,25	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,3±0,21	4,3±0,21
Пассивность	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,8±0,31	4,2±0,31	4,0±0,01	3,8±0,17	4,3±0,33	4,0±0,01	3,7±0,21	3,8±0,17
Стереотипия	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Беспокойство	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,2±0,17	0,0±0,01	0,0±0,01	0,2±0,17	0,0±0,01	0,0±0,01	0,3±0,21	0,3±0,21
Агрессия	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Груминг	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,8±0,17	3,8±0,17	4,0±0,01	3,8±0,17	3,8±0,17	4,0±0,01	3,8±0,17	3,8±0,17
Спонтанная двиг. активность	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,7±0,21	3,7±0,21	4,0±0,01	3,7±0,21	3,8±0,17	4,0±0,01	4,2±0,17	4,2±0,17

Примечания: * – изменения статистически значимы по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскела-Уолиса с постобработкой критерием Данна).

Таблица 7.3 – Влияние соединения ДАБ-21 на нейротоксические эффекты мышей при внутрижелудочном введении различных доз изучаемого вещества – ДАБ-21 в многопараметровом нейротоксикологическом тесте по S.Irwin, (M±m)

Баллы	Норма	Время наблюдения (мин)														
		Контроль			ДАБ-21											
					1,26 мг/кг			25 мг/кг			63 мг/кг			126 мг/кг		
		исход	60 мин	120 мин	Исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин	исход	60 мин	120 мин
Нервно-мышечная возбудимость																
Реакция на прикосновение	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,2±0,17	3,8±0,17	4,0±0,01	4,2±0,17	4,0±0,01	4,0±0,01	4,5±0,22*	4,2±0,17
Реакция на боль	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,8±0,17	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,2 ±0,17	4,2±0,17
Реакция на стук	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,8±0,17	4,0±0,01	4,0±0,01	3,8±0,17	4,0±0,01	4,2±0,17	4,3±0,33
Тремор	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Подергивание	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Судороги	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Расстройство походки	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Тонус конечностей	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01

Примечания: * – изенения статистически значимы по отношению к контролю (p≤0,05, критерий Краскела-Уолиса с постобработкой критерием Данна).

Таблица 7.4 – Влияние соединения ДАБ-21 на нейротоксические эффекты мышей при внутрижелудочном введении различных доз изучаемого вещества – ДАБ-21 в многопараметровом нейротоксикологическом тесте по S.Irwin, (M±m)

Баллы	Норма	Контроль исход	Контроль 60 мин	Контроль 120 мин	ДАБ-21 1,26 мг/кг Исход	1,26 мг/кг 60 мин	1,26 мг/кг 120 мин	25 мг/кг исход	25 мг/кг 60 мин	25 мг/кг 120 мин	63 мг/кг исход	63 мг/кг 60 мин	63 мг/кг 120 мин	126 мг/кг исход	126 мг/кг 60 мин	126 мг/кг 120 мин
Вегетативные эффекты																
Птоз/экзофтальм	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,7±0,21*	3,8±0,17
Размер зрачка	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,7±0,21	3,7±0,21
Саливация	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01	0,0±0,01
Уринация	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,3±0,21	4,2±0,17	4,0±0,01	4,3±0,21	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,2±0,17
Дефекация	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01
Температура	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	3,7±0,21
Цвет кожи	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01
ЧДД	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01	4,0±0,01

Примечания: * – изменения статистически значимы по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Краскела-Уолиса с постобработкой критерием Данна).

Таблица 7.5 – Изменения параметров функционально-поведенческого статуса мышей при однократном внутрижелудочном введении соединения ДАБ-21 в зависимости от дозы

Тестируемые параметры	ДАБ-21			
	1,26 мг/кг	25 мг/кг	63 мг/кг	126 мг/кг
Поведенческие реакции				
Вокализация	0	0	0	0(↑)
Груминг	0	0	0	0
Спонтанная двиг. акт-ть	0	0	0(↓)	0
Нервно-мышечная возбудимость				
Реакция на прикосновение	0	0	0	0(↑)
Вегетативные эффекты				
Птоз	0	0	0	0(↑)

Примечания:

↓ – изменения, связанные с ослаблением тестируемого показателя;

↑ – изменения,связанные с усилением тестируемого показателя,

0 – отсутствие изменений тестируемого параметра.

7.3. Определение аддикции соединения ДАБ-21 в тесте «Условная реакция предпочтения места»

Животные, получавшие диазепам, на 9 день наблюдения проводили в ассоциированной с введением транквилизатора камере в среднем 72 % времени эксперимента ($p < 0,05$), животные, получавшие ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг, в среднем 50 % ($p<0,05$), что соответствует показателю контрольной группы и свидетельствует об отсутствии развития у них аддиктивного поведения (Таблица 7.6).

Таблица 7.6- Влияние соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг эквимолярной препарату сравнения диазепама 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) и диазепама (в дозе 1 мг/кг, внутрижелудочное введение) на развитие аддикции у мышей в тесте «Условная реакция предпочтения места» (M±m)

Тестируемые образцы	Время, проведенное в камере 1 (первый день эксперимента), сек	Время, проведенное в камере 1 (девятый день эксперимента), сек
Контроль	447,5±21,08	445,3±37,26
Диазепам	455,8±19,37	649,8±30,18*
ДАБ-21	449,0±11,33	453,7±13,44

Примечание: изменения достоверны по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса)

7.4. Заключение

В результате предварительного изучения острой токсичности соединения ДАБ-21 на одном виде животного – мышей-самцов, величина среднесмертельной дозы (LD_{50}) при внутрижелудочном введении составляет 826,1 мг/кг и превосходит по безопасности аналогичный показатель препарата сравнения диазепама. По уровню острой токсичности ДАБ-21 относятся к 3 классу токсичности [ГОСТ 12.1.007–76, 1976].

Для ДАБ-21 не характерно изменение функционально- поведенческого статуса животных, изученного по методу S.Irwin в дозе 1,26 мг/кг и превышающие таковую в 20 раз – 25 мг/кг и 50 раз – 63 мг/кг. Минимальные нейротоксические эффекты, связанные с изменением поведенческих (вокализация) и нервно-мышечных реакций (реакция на прикосновение), а также вегетативных эффектов (увеличение птоза) отмечаются при введении ДАБ-21 в дозе превышающей 1,26 мг/кг в 100 раз – 126 мг/кг.

Для соединения ДАБ-21, в отличие от многих бензодиазепиновых производных, не характерно развитие аддикции.

ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эпидемиологические исследования, проводимые ВОЗ, и статистика отдельных стран показывают, что 5 из 10 основных причин нетрудоспособности в большинстве стран мира имеют отношение к психическим и поведенческим расстройствам. По подсчетам ВОЗ, подобные нарушения наблюдаются примерно у 10 % населения в целом, и у 20 % пациентов звена первичной медицинской помощи. На протяжении жизни психические нарушения переносят примерно 450 млн человек (Краснов В. Н. и др., 2010). Доля мирового населения, имеющего тревожные расстройства на 2015 год, оценивается как 3,6% соответственно, а пик заболеваемости приходится на наиболее трудоспособный возраст 20-40 лет (World Health Organization, 2017).

Одним из подходов к выяснению механизмов анксиогенеза является изучение активности нейромедиаторных систем в различных ассоциированных с тревогой/страхом структурах головного мозга, многие из которых были определены по результатам изучения действия лекарственных средств (Сюняков Т. С., Сюняков С.А., Дорофеева О.А., 2011). Результатом таких исследований (Bell C. et al., 2011; Blanchard D. C., Griebel G., Nutt D.J., 2011; Nakamura K. et al., 2002; Finn D. A., Rutledge-Gorman M.T., Crabbe J.C., 2003; Qi J., Kim M., Sanchez R., 2018) стало выявление изменения активности множества нейротрансмиттеров, среди которых ГАМК, серотонин, норадреналин, дофамин, нейропептиды, в частности кортиколиберин, холецистокинин, нейропептид Y и др. (Bell C. et al., 2011).

С ГАМК-ергическими механизмами формирования тревоги тесно связаны влияния на его бензодиазепиновый сайт, а также некоторых систем нейропередачи. В частности, с этих позиций рассматривается участие ацетилхолина в регулировании тревоги (Медведев В. Э., 2015). Однако в других исследованиях приводятся сведения, что и мускариновые M_1-рецепторы опосредуют возникновение тревоги через воздействие на норадренергические пути (Terzioğlu B. et al., 2013). С позиций модуляции ГАМКергической функции рассматриваются анксиолитические свойства метаболита нуклеиновых кислот аденозина, который, воздействуя на A_1- и A_2-рецепторы, усиливает высвобождение ГАМК в области перегородки мозга и гиппокампа (Correa M., Font L., 2008). Благодаря наличию нейростероидного участка на ГАМК$_A$-рецепторах осуществляют свое анксиолитическое действие и нейростероиды – связываясь с этим участком (δ-субъединица) дезоксикортикостероиды, подобно бензодиазепинам, повышают приток ионов хлора внутрь нейрона (Miller P. S. et al., 2017).

О влиянии серотонинергической системы при тревожных расстройствах (Maron E. et al., 2004; Neumeister A. et al., 2004; Maron E. et al., 2006; Cannon D. M. et al., 2013; Ponzoni L., Sala M., Braida D., 2016; Smoller J. W., 2016; Weinberg-Wolf H. et al., 2018; Shioda N. et al., 2019;) также свидетельствует корреляция уровня 5-оксииндолацетата, метаболита серотонина, с тяжестью нарушений (Garvey M. J. et al., 1995; Coplan J. D. et al., 2014) и усиление тревоги при введении неселективного агониста серотониновых рецепторов м-хлорфенилпиперазина и снижение ее выраженности при введении антагониста серотониновых рецепторов ритансерина (Charney D. S. et al., 1987; Martin C. B. et al., 2015).

Данные о роли норадреналина в механизмах тревоги основываются на том, что стрессовые воздействия вызывают или усиливают тревогу путем повышения секреции надпочечниками катехоламинов (Gozzi A. et al., 2013). Считается, что норадреналин играет значительную роль в генезе таких заболеваний, как посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) и паническое расстройство. Об этом, в частности, свидетельствует эффективность при паническом расстройстве клонидина, стимулирующего а2-адренорецепторы (Wickramasekara, R. N. et al., 2020). О вовлеченности норадренергической системы в патогенез тревожных расстройств свидетельствуют данные о том, что мутантные по гену фермента моноаминоксидазы типа А (МАО-А) мыши демонстрировали сниженную (Bortolato M., Floris G., Shih J.C., 2018), а нокаутные по гену а2-адренорецепторов – повышенную тревожность (Bartlett A. A., Singh R., Hunter R.G., 2017).

Представление о роли дофамина в развитии тревожных расстройств основано на результатах исследований, показавших, что агонисты и антагонисты дофаминовых рецепторов обладают анксиогенным эффектом или ослабляют проявления тревоги (Kline IV R. H. et al., 2015; Rice O. V. et al., 2018; Song D. et al., 2018; Tu G. et al., 2019).

Так же было определено участие глутаматергической системы в регулировании тревоги при воздействии аверсивных стимулов и стрессовых ситуаций было выявлено увеличение уровней глутамата. При этом блокирование глутаматергической нейротрансмиссии в дорсолатеральных отделах околоводопроводного серого вещества приводило к восстановлению нормального поведения животных (Петров В. И. и др., 2002; Youssef E. A. et al., 2018).

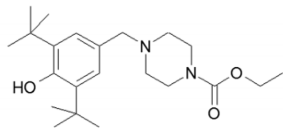
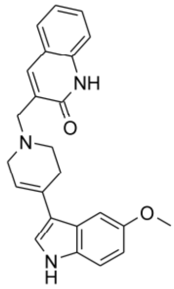
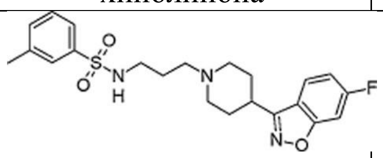
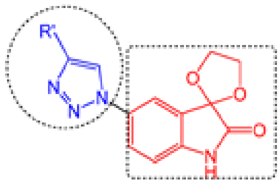
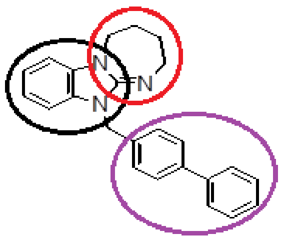
В последнее время значительное внимание уделяется изучению места пептидергических систем в формировании тревоги. Биологически активные пептиды/нейропептиды представляют собой родственные организму факторы, которые, выполняя нейромедиаторные и нейромодуляторные функции, вызывают эффекты, во много раз превышающие по длительности ответ на классические нейромедиаторы, являются связующим звеном основных систем, опосредующих реактивность организма к внешним факторам, и, взаимодействуя друг с другом, формируют единый функциональный континуум, регулирующий многие аспекты гомеостаза и высшей нервной деятельности. Благодаря этому их роль существенно возрастает при патологических состояниях. Наиболее богата нейропептидами отвечающая за эмоциональное поведение лимбическая система, локализующаяся в среднем и промежуточном мозге, а также в базальных ганглиях и древней коре (Kormos V., Gaszner B., 2013).

Таким образом, патогенез тревожных расстройств, а также большое число нейродегенеративных заболеваний, ассоциируется со сложным взаимодействием различных нейроанатомических структур, выполняющих специфические функции, и множественных нейромедиаторных систем (Бачурин С. О., 2018). На фоне указаний на мультифакториальный генез тревожных расстройств, основанных на сопоставлении данных о полигенном контроле тревожных состояний и обнаруженных нарушениях на разных этапах многочисленных систем проведения сигнала, все более отчетливо появляется необходимость расширения арсенала анксиолитиков, каждый из которых займет свое место и найдет применение с учетом данных о патогенетических механизмах развития тревоги, пришедших на смену парадигме поиска «идеального анксиолитика». Указанная позиция нашла отражение в разработанной Т.А.Ворониной и С.Б.Середениным (Воронина Т. А., Середенин С.Б., 2002) современной классификации анксиолитических средств, в которой с учетом современных данных о генезе тревожных нарушений определены перспективные направления поиска новых соединений, обладающих противотревожной активностью.

Одной из концепций при создании новых лекарственных средств является комбинирование привилегированных структур (Бачурин С. О., 2018; Bostwick J. R., Casher M. I., Yasugi S., 2012; Aastha, P. et al., 2013), обладающих несколькими фармакологическими активностями. Данная химическая модификация может позволить избежать ряда нежелательных эффектов и привести к более выраженному основному фармакологическому действию.

Для многих соединений, находящихся на данный момент на доклинической стадии изучения (описаны в Главе 1), нацеленные на коррекцию и лечение тревожно-фобических расстройств, характерна полимодальная активность, либо наличие привилегированных структур в химической формуле (Таблица 8.1).

Таблица 8.1 – Изучаемые соединения, направленные на коррекцию и терапию тревожно-фобических расстройств, в настоящее время находящиеся на доклинической стадии изучения

№	Шифр соединения	Химическая формула	Фармакологическая мишень	Проявляемые эффекты
1	**LQFM180** (Brito A. F., Braga P.C., Moreira L.K., 2018)	 производное пиперазина	5-HT/D-рецепторное действие	Анксиолитическая Антидепрессивная
2	**D2AAK1** (Kaczor A. A. et al., 2016)	 производного хинолинона	D_1-, D_3-, 5-HT_{1a}- и 5-HT_{2a}-рецепторное действие	Антипсихотическая Анксиолитическая
3	**ADN-1184** (Partyka A. et al., 2016)	 производное арилсульфаниламида	5-$HT_{6/5}$-$HT_{7/5}$-HT_{2a}/D_2-рецепторное действие	Анксиолитическая Антидепрессивная
4	**PILAB 8** (Montes G.C., Da Silva B.N.M., Rezende B., 2017)	 две привилегированные структуры – триазол и изатиновый скаффолд	μ- рецепторное действие	Анксиолитическая Антиноцицептивная
5	**BIF** (Спасов А.А., et al., 2020]	 11-бифенилметилзамещенные 11Н-[1,3]диазепино[1,2-α]-бензимидазолы	ГАМК- рецепторное действие	Анксиолитическая Антидепрессивная

К одним из наиболее перспективных классов веществ, обладающих высокой транквилизирующей активностью относятся производные диазепина и производные бензимидазола. Выраженные транквилизирующие эффекты производных диазепина и бензимидазола широко освещены в научной литературе (Ковалев Г. В., 1990; Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014; Voronin M. V., Kadnikov I.A., 2016; Kalinina T. S. et al. 2016; Burchinskii S. G., 2018), лекарственные препараты данных классов давно используются в терапии тревожно-фобических расстройств как анксиолитики (Краснов В. Н. и др., 2007; Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014), снотворные (Полуэктов М. Г., Пчелина П.В., 2017) и противосудорожные средства (Беккер Р. А., Быков Ю.В., 2017). Однако, серьезные побочные эффекты производных бензодиазепина, к числу которых относятся аддикция и седация, ограничивают терапевтическое применение препаратов данной группы. В отличие от бензодиазепинов, производные бензимидазола проявляют менее выраженные побочные эффекты (Беккер Р. А., Быков Ю.В., 2017). В связи с этим, комбинирование данных привилегированных подклассов – диазепинового и бензимидазольного фрагментов путем химического синтеза и создание базовой структуры производных диазепинобензимидазола теоретически может привести к появлению нового класса веществ, обладающих выраженными транквилизирующими свойствами и минимумом побочных эффектов (Спасов А.А. и др., 2018).

На базе кафедры фармакологии и биоинформатики Волгоградского государственного медицинского университета были изучены соединения нового класса производных диазепино[1,2a]бензимидазола, синтезированные сотрудниками НИИ ФОХ ЮФУ. Данные вещества содержат в своей базовой структуре два привилегированных подкласса – диазепиновый и бензимидазольный, которые являются перспективными в изучении транквилизирующей активности. Учитывая, что для различных привилегированных подклассов химических веществ присущи разные механизмы действия, а комбинированный синтез таких соединений может привести к созданию полимодальных препаратов, оказывающих комплексное воздействие на несколько биологических мишеней, ответственных за патогенез заболевания (Бачурин С. О., 2018), можно предположить, что изучаемые производные способны взаимодействовать с несколькими типами рецепторов в центральной нервной системе, а именно - проявлять политаргетный механизм действия (Спасов А.А. и др., 2018).

При выборе классов соединений был проведен анализ ранее исследованных веществ, как на кафедре фармакологии и биоинформатики Волгоградского государственного медицинского университета (Таран А.С. и др., 2017), так и научной литературы (Rashid M. A. et al., 2019; Voronin M. V., Kadnikov I.A., 2016). Ранее был проведен компьютерный прогноз вероятности наличия транквилизирующей активности у изучаемых соединений производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола (Таран А.С. и др., 2017) в тест-системе pass, который позволил предположить наличие у данных веществ широкого спектра вероятных видов нейропсихотропной активности –

анксиолитической, ноотропной, антиневротической, противосудорожной, анальгетической, нейропротекторной, лечение нейродегенеративных заболеваний.

На первом этапе был проведен скрининг 15 новых производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола, направленный на изучение анксиолитической активности и степени ее выраженности. Наличие противотревожного действия изучали в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Так же на данном этапе были изучены миорелаксирующие свойства экспериментальных веществ в тестах «Актометр», «Ротарод», «Сетка» и «Проволока». Наиболее информативными показателями проявления анксиолитической активности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» являлись время, проведенное в открытых рукавах и количество выходов в них. Исследуемые соединения проявили различный уровень антифобического и миорелаксирующего действия. Так, в результате проведенного исследования было показано, что соединение ДАБ-32 имеет наименее выраженное анксиолитическое действие (Рисунок 8.1). К тому же по результатам тестов, направленных на изучение локомоторной активности было показано, что соединение ДАБ-32 имеет выраженный миорелаксирующий эффект. Было выдвинуто предположение о том, что радикал 4-фторфенацил, присутствующий в положении N^{11} изучаемого соединения ДАБ-32, не способствует проявлению выраженной анксиолитической активности в установленной изучаемой дозе, но возможно ответственен за развитие миорелаксации.

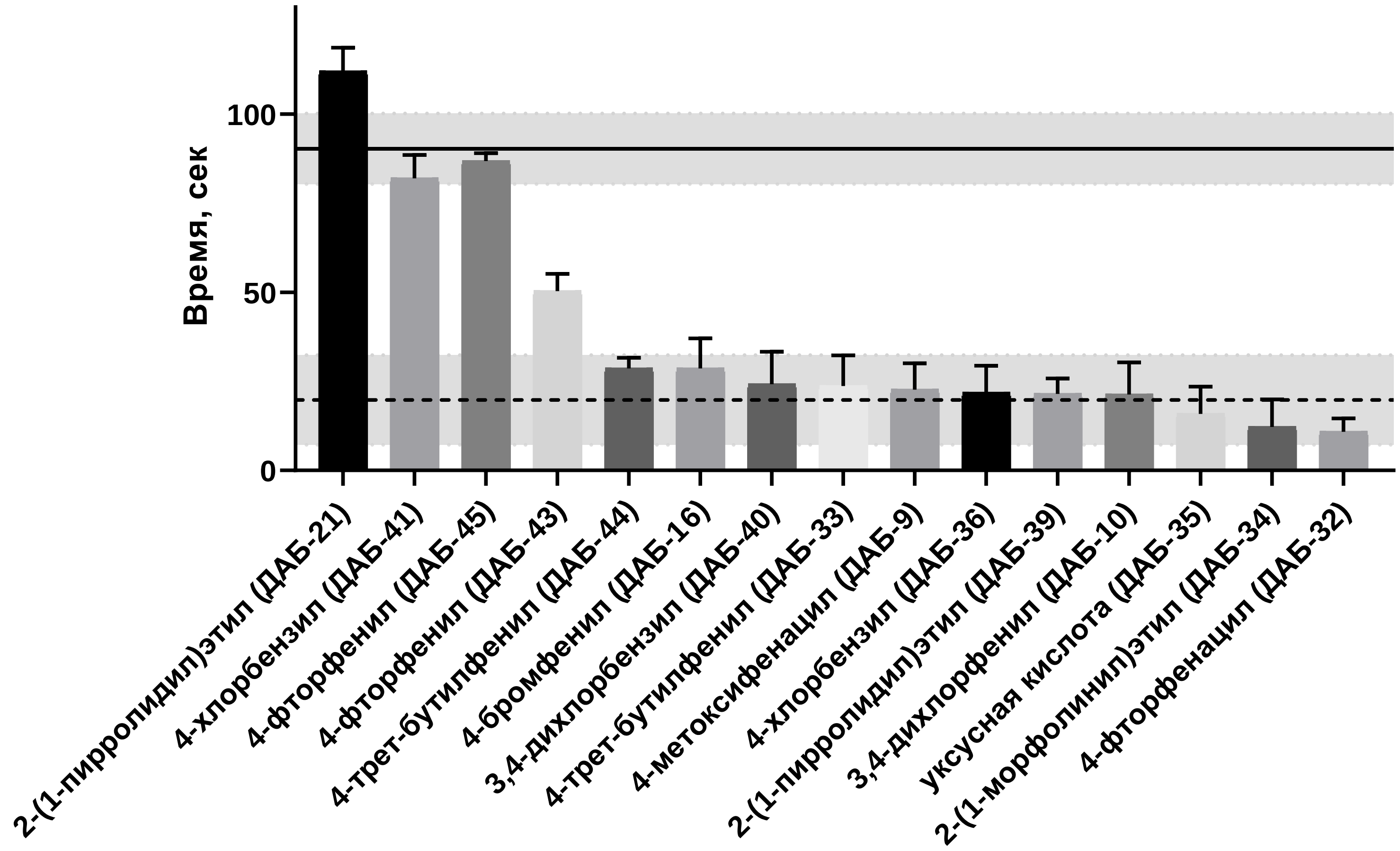
Соединения ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39 и ДАБ-40, ДАБ-43 и ДАБ-44 проявили низкую анксиолитическую активность (Рисунок 8.1). По результатам тестов, направленных на изучение локомоторной активности, было показано, что вещества проявляют низкую миорелаксирующую активность. Было выдвинуто предположение, что заместители в положении N^{11} данных производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола не способствуют развитию выраженного противотревожного эффекта.

Присутствие радикала морфолинилэтила в N^{11} положении соединения ДАБ-34 не приводило к выраженному анксиолитическому действию. Возможно это связано с природой радикала. Химическая структура вещества содержит в положении C^8 и C^9 метильные радикалы, было замечено, что присутствие данных заместителей отрицательным образом сказываеся на степени выраженности антистрессорной активности.

Была замечена определенная зависимость - схожая низкая противотревожная активность соединений ДАБ-9 , ДАБ-10 и ДАБ-16 коррелирует с наличием в составе данных соединений близких по своей химической структуре радикалов в N^{11} положении: 4-метоксифенил (ДАБ-9), 3,4 – дихлорфенил (ДАБ-10) и 4-бромфенил (ДАБ-16), из чего можно сделать вывод о том, что данные радикалы в положении N^{11} производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола в установленных дозах, а так же наличие в них кето-группы не приводят к возникновению выраженного анксиолитического эффекта. Соединение ДАБ-33 показавшее низкую анксиолитическую активность, содержит в положении N^{11} радикал: 4-трет-бутилфенил, а также метильные группы в положениях C^8 и C^9.

Соединения ДАБ-36, ДАБ-39 и ДАБ-40 (Рисунок 8.1) не проявили выраженной анксиолитической активности, сопоставимой с диазепамом, данные соединения обладают схожими радикалами: 4-хлорбензил (ДАБ-36), 3,4-дихлорбензил (ДАБ-39, ДАБ-40) из чего следует вывод о том, что наличие данных заместителей, либо присутствие атома хлора в радикале в положении N^{11} производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола в данных дозах не приводит к развитию выраженного противотревожного действия. К тому же, в структуре ДАБ-36 и ДАБ-39 в положениях C^8 и C^9 присутствовали метильные радикалы, что, скорее, отрицательно повлияло на развитие анксиолитической активности данных веществ.

Соединение ДАБ-35 (Рисунок 8.1) показало результат, сопоставимый с результатом контрольной группы, что может свидетельствовать об отсутствии анксиолитической активности у производного и, возможно, ряда производных 11-Карбокси-(карбэтокси)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола.



- время, проведенное в светлом рукаве животыми из группы контроля (серым цветом обозначен доверительный интервал)

- время, проведенное в светлом рукаве животыми под действием диазепама (серым цветом обозначен доверительный интервал);

Рисунок 8.1 – Влияние заместителей в N^{11} положении изучаемых производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола, на продолжительность времени, проведенного в светлом рукаве исследуемыми животными в порядке убывания эффекта (с).

Анализируя химические структуры исследуемых соединений была получена зависимость: практически у всех соединений, не проявивших статистически выраженной анксиолитической активности присутствовал радикал в положении N^{11} с шестичленным циклом. Можно предположить, что наличие данной структуры у производного диазепино[1,2-α]-бензимидазола в положении N^{11} отрицательно сказывается на способности соединения проявлять выраженную анксиолитическую активность.

Соединения ДАБ-43 и ДАБ-44 (Рисунок 8.1), так же показавшие умеренную и низкую противотревожную активность соответственно, имеют в положении N^{11} 4-фторфенильный радикал. У соединения ДАБ-44 также добавлены метильные радикалы в положениях C^8 и C^9, данный факт снизил исследуемую активность в сравнении с веществом ДАБ-43. Из чего можно сделать заключение о том, что этот заместитель способствует развитию умеренного анксиолитического действия производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола, а именно производных 11-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола в данной дозе при условии стыковки с базовой структурой веществ в положении N^{11}.

Соединение ДАБ-45, содержащее в своей структуре только 4-трет-бутилфенильный радикал в положении N^{11} без дополнительных радикалов (ДАБ-33) проявляет умеренную анксиолитическую активность. Соответственно можно сделать заключение о том, что наличие этого радикала в положении N^{11} производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола в установленной дозе приводит к развитию противотревожных свойств. Таким образом производные 11-Фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола гидрогалогениды, являются перспективными для изучения транквилизирующей активности и требуют химической модификации.

Соединение ДАБ-41 (Рисунок 8.1), обладающее 4-хлорбензильным заместителем, статистически превосходило контроль, но не группу диазепама. Умеренная активность данного соединения свидетельствует о перспективности производных 11-Алкил- и Бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола в изучении транквилизирующих свойств и необходимости их химической модификации.

Выраженная анксиолитическая активность, превосходящая таковую препарата сравнения диазепама, была показана у соединения ДАБ-21 (Рисунок 8.1), имеющем в положении N^{11} пирролидилэтильный радикал. Данное соединение превосходило показатели препарата сравнения диазепама, что свидетельствовало о перспективности данного вещества для дальнейшего углубленого изучения его нейропсихотропного профиля.

Таким образом на первом этапе был проведен поиск соединений, имеющих выраженную анксиолитическую активность, превышающую таковую препарата сравнения диазепама. Было найдено соединение лидер – 11 - [(2 – пирролидин – 1 – ил) – этил] - 2, 3, 4, 5 - тетрагидро [1 ,3]

- диазепино[1,2-α]-бензимидазол дигидрохлорид - под шифром ДАБ-21 для углубленного изучения его транквилизирующих свойств.

На следующем этапе было проведено углубленное изучение анксиолитической активности соединения ДАБ-21. Проведенные тесты в целом подтвердили и расширили информацию об анксиолитической активности изучаемого вещества.

В результате изучения противотревожного действия соединения ДАБ-21 в зависимости от дозы было доказано, что изучаемое вещество обладает широким диапазоном доз (от 0,00013 мг/кг до 29 мг/кг) в котором проявляется выраженная анксиолитическая активность, в отличие от препарата сравнения. В дозировках, соответствующих диазепаму - 1 и 2 мг/кг – у мышей, под действием соединения ДАБ-21, был показан статистически лучший результат, чем у мышей под действием препарата сравнения. Также было отмечено, что в интервале 0,001 мг/кг – 2 мг/кг мыши из опытной группы статистически превосходили анксиолитическую активность диазепама в интервале 0,5 мг/кг – 2 мг/кг. В более высоких концентрациях, таких как 29 мг/кг, у животных наблюдалось снижение анксиолитической активности под действием соединения ДАБ-21. В результате проведенного исследования для дальнейших экспериментов была выбрана минимальная дозировка, проявляющая максимальный противотревожный эффект - 1,26 мг/кг, (оптимальная или рабочая доза) соответствующая дозировке – 1 мг/кг препарата сравнения диазепама.

В результате изучения зависимости анксиолитического действия соединения ДАБ-21 от времени введения, было установлено, что наибольшая анксиолитическая активность изучаемого вещества развивается к 30 минуте после введения, затем сохраняется в течении 3-4 часов, после чего наблюдается плавное снижение изучаемой активности. Было показано, что через 24 часа после введения соединения ДАБ-21, регистрируемые показатели животных, соответствуют таковым группы контроля. Полученные данные позволяют предположить о длительном анксиолитическом действии ДАБ-21, сопоставимым с длительным действием препарата сравнения диазепама (12-24 ч.)

Согласно современным рекомендациям по доклиническому изучению транквилизирующей активности новых соединений (Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л., 2012) необходимо исследовать данный тип активности минимум на трех поведенческих моделях, одна из которых должна заключать в себе конфликтную парадигму («Наказуемое взятие воды по Vogel»).

При изучении противотревожной активности соединения ДАБ-21 в тесте «Темная-светлая камера», который является моделью для подтверждения полученной информации из теста «Приподнятый крестообразный лабиринт», было показано, что вещество ДАБ-21 так же проявляет выраженную анксиолитическую активность. Животные, которым вводили соединение

ДАБ-21, совершали статистически большее количество переходов между камерами установки относительно групп контроля и диазепама. Количество времени, проведенное в светлом отсеке данной изучаемой группой, так же статистически превышало показатели группы контроля и диазепама. Латентное время выхода из темной камеры у мышей под действием соединения ДАБ-21 было статистически меньше, чем у групп контроля и препарата сравнения, что совместно с другими показателями, может свидетельствовать о развитии у данной группы животных выраженного анксиолитического эффекта. Животные под действием изучаемого соединения активно выходили на длительные отрезки времени в светлый отсек установки, изучали его, принимали вертикальное положение, т.е. не проявляли тревожной активности.

Тест «Наказуемое взятие воды по Vogel», обладающий в своей основе конфликтной парадигмой (электрический импульс), подтвердил данные тестов «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Темная-светлая камера». У группы крыс, которая получала соединение ДАБ-21, увеличивалось число наказуемых взятий воды из поилки по сравнению с диазепамом и контрольной группой. Было замечено, что у животных под действием ДАБ-21 снижался латентный период взятия воды в сравнении с диазепамом, также снижалось время между первым и вторым подходами к поилке. Таким образом, соединение ДАБ-21 по проявлению анксиолитического эффекта в тесте конфликтной ситуации статистически не уступает группе препарата сравнения диазепама.

В результате исследования анксиолитической активности соединения ДАБ-21 на многопараметровой модели, в основу которой положена ранжированная шкала, - «Оценка тревожно-фобического состояния» (Лебедев А. А. и др., 2016), сумма баллов животных, (полученных после ряда тестовых ситуаций, предложенных данной моделью) которым вводили изучаемое вещество ДАБ-21, соответствовала сумме баллов животных группы препарата сравнения диазепама, что еще раз подтверждает наличие противотревожного эффекта у соединения ДАБ-21.

При оценке поведенческих свойств животных под действием вещества ДАБ-21 в тесте «Открытое поле» опытная группа совершает статистически больше актов горизонтальной и вертикальной активности и поисковых манипуляций в отличие от групп диазепама и контроля, что может являться показателем развития анксиолитического действия изучаемого соединения ДАБ-21.

По результатам теста «закапывание шариков» было показано, что соединение ДАБ-21 статистически достоверно снижает проявления компульсивноподобных состояний у мышей в отличие от контроля и препарата сравнения диазепама, что доказывает наличие у вещества ДАБ-21 выраженного антикомпульсивного компонента.

При изучении влияния соединения ДАБ-21 на развитие агрессивности в тесте «резидент-интрудер» было доказано, что животные, получавшие ДАБ-21 проявляли статистически менее выраженное агрессивное поведение относительно групп интактного контроля и сопоставимое с таковым группы диазепама. Так же у данной группы животных было замечено увеличение коммуникативных свойств относительно группы препарата сравнения диазепама. В результате проведенного исследования было установлено, что изучаемое вещество снижает агрессивность и не влияет на коммуникативные навыки животного.

Учитывая, что в качестве препаратов первой линии при терапии тревожно-фобических расстройств преимущественно рассматриваются СИОЗС (селективные ингибиторы обратного захвата серотонина) (пароксетин, эсциталопрам, сертралин) и СИОЗСН (селективные ингибиторы обратногозахвата серотонина и норадреналина) (венлаксин, дуолоксетин), так же доказаны эффекты трициклических антидепрессантов (анафранил) (Сиволап Ю. П., 2018; Левин О. С., 2017), т.е. препараты, применяемые при лечении депрессивно-подобных состояний, было изучено антидепрессивное действие исследуемого соединения ДАБ-21. При исследовании влияния соединения ДАБ-21 на проявление антидепрессивной активности в результате трех проведенных экспериментов – «принудительное плавание по Porsolt» (мыши), «принудительное плавание по Porsolt» (крысы), «подвешивание за хвост» (мыши) было доказано что соединение ДАБ-21 обладает антидепрессивным действием. Показатели животных под действием изучаемого вещества превосходили показатели групп контроля и диазепама, но уступали полученным значениям амитриптилина и имипрамина.

Также большое количество транквилизаторов используется в разновидности нейролептанальгезии – атаралгезии, в основе которой лежит достижение состоянии атараксии и выраженной аналгезии с помощью седативных препаратов и анальгетиков. Таким образом, следующим этапом стало изучение анальгетической активности исследуемого соединения ДАБ-21 в тесте «Горячая пластина» и «Отдергивание хвоста». Было показано, что данное вещество обладает умеренным анальгетическим действием, не превосходящим активность буторфанола. В результате проведенного изучения анальгезирующей активности соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг было показано, что при введении животным иссследуемого вещества в тесте «Горячая пластина» статистически возрастало время облизывания задней лапки и соответствовало показателю препарата буторфанола в дозе 1 мг/кг это свидетельствует о том, что изучаемое соединение блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном уровне. Анальгетической активности соединения ДАБ-21 в тесте «Отдергивания хвоста» выявлено не было, таким образом изучаемое соединение не влияет на ноцицептивные реакции на спинальном уровне.

Известно, что анксиолитическая активность диазепиновых транквилизаторов зависит от дозы препарата и времени введения (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014). При изучении влияния соединения ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг на миорелаксирующую активность животных в зависимости от времени в тесте «Актометр» было показано, что количество переходов группы, чья точка регистрации была через 0,5 часов соответствует показателю группы контроля. Животные, регистрация фармакологических эффектов которых происходила через 1, 2 и 4 часа показали незначительное увеличение количества переходов относительно контроля. Группы животных, тестируемые через 8, 12 и 24 часа после введения соединения ДАБ-21 соответствовали группе контроля.

Таблица 8.2 – Изучение некоторых нейропсихотропных свойств соединения ДАБ-21 в сравнении с диазепамом, амитриптилином*, имипрамином* и буторфанолом*

Активность	Название модели	Изучаемое соединение				
		ДАБ-21 (1,26 мг/кг)	Диазепам (1 мг/кг)	Амитриптилин* (10 мг/кг)	Имипрамин* (8 мг/кг)	Буторфанол* (1 мг/кг)
Анксиолитическая активность	Приподнятый крестообразный лабиринт	++	++	*	*	*
	Темная-светлая камера	++	++			
	Наказуемое взятие воды по Vogel	++	+			
	Оценка тревожно-фобического состояния животных	++	++			
Поведенческая активность	Открытое поле	++	+	*	*	*
	Закапывание шариков (обсессивно-компульсивное поведение)	++	+			
	Резидент-интрудер (зоосоциальное поведение)	++	+			
Антидепрессивная активность	Принудительное плавание по Porsolt (мыши)	+	-	++	++	*
	Принудительное плавание по Porsolt (крысы)	+	-	++	++	

<table>
<tr><th rowspan="2">Активность</th><th rowspan="2">Название модели</th><th colspan="5">Изучаемое соединение</th></tr>
<tr><th>ДАБ-21
(1,26 мг/кг)</th><th>Диазепам
(1 мг/кг)</th><th>Амитриптилин*
(10 мг/кг)</th><th>Имипрамин*
(8 мг/кг)</th><th>Буторфанол*
(1 мг/кг)</th></tr>
<tr><td>Антидепрессивная активность</td><td>Подвешивание за хвост (мыши)</td><td>+</td><td>-</td><td>++</td><td>++</td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="2">Анальгетическая активность</td><td>Горячая пластина</td><td>++</td><td>-</td><td rowspan="2">*</td><td rowspan="2">*</td><td>++</td></tr>
<tr><td>Отдергивание хвоста</td><td>-</td><td>-</td><td>++</td></tr>
</table>

Примечание:

«» - препарат не использовался в эксперименте на данной модели*

«+» - активность, статистически значимо превышающая активность контрольной группы;

«++» - выраженная статистическая значимость различий;

«-» - отсутствие статистически выраженной активности, превышающей активность контрольной группы.

Следующим этапом стало изучение взаимодействия соединения ДАБ-21 с основными агонистами/антагонистами различных нейромедиаторных систем. На основании полученных данных эксперимента, проведенного с антагонистом бензодиазепиновых рецепторов – флумазенилом, было показано снижение анксиолитической активности соединения ДАБ-21, в результате чего можно предположить взаимодействие исследуемого вещества с бензодиазепиновым рецептором.

По результатам тестов с флумазенилом и пикротоксином было доказано присутствие ГАМК-ергического звена в механизме действия соединения ДАБ-21, но не как основного, в виду отсутствия влияния изучаемого соединения на действие пикротоксина (пикротоксиновые судороги).

Соединение ДАБ-21 достоверно увеличивало эффекты 5-гидрокситриптофана, отмечалось выраженное увеличение количества проявлений специфических гиперкинезов «встряхивания головы» относительно показателей группы контроля. Полученные результаты подтверждают наличие у изучаемого соединения моноаминергческого действия.

Исследуемое вещество незначительно меняло центральные М-холинергические эффекты ареколина и не приводило к изменению возникновения судорог у животных под воздействием Н-холинергического влияния никотина. Это может свидетельствовать об отсутствии действия ДАБ-21 на холинергическую нейропередачу.

Соединение ДАБ-21 статистически увеличивало действие фенамина, незначительно потенцировало эффекты L-ДОФА, снижало каталептическое действие галоперидола, но не показало статистически значимого взаимодействия с апоморфином, что в целом позволяет предполагать влияние на дофаминовую нейропередачу.

Соединение ДАБ-21 не влияет на эффекты клофелина, и не показало способность нивелировать действие резерпина, что в совокупности тестов свидетельствует об отсутствии адренергического действия у изучаемого вещества.

В результате анализа полученных результатов взаимодействия с агонистами/антагонистами различных нейромедиаторных систем, было доказано ранее выдвигавшееся предположение о полимодальности изучаемого соединения ДАБ-21.

Последним этапом стало изучение токсических и побочных свойств вещества ДАБ-21. Известно, что существующие транквилизаторы имеют широкий перечень серьезных побочных эффектов (Ладыженский М. Я., Городничев А.В., Костюкова Е.Г., 2014), наиболее значимыми из которых являются развитие зависимости, аддикция и миорелаксация (Спасов А.А. и др., 2018). В результате предварительного изучения острой токсичности соединения ДАБ-21 на одном виде животного – мышей-самцов, величина среднесмертельной дозы (LD_{50}) при внутрижелудочном введении составляет 826,1 мг/кг, и превосходит по безопасности аналогичный показатель препарата сравнения диазепама. По уровню безопасности соенинение ДАБ-21, относится к 3 классу токсичности [ГОСТ 12.1.007–76, 1976].

При изучении аддикции в тесте «Условная реакция предпочтения места» было показано, что животные, получавшие ДАБ-21 проводили в ассоциированной с данным соединением комнате в среднем 50% времени ($p<0,05$), что соответствует показателю контрольной группы и свидетельствует об отсутствии развития аддиктивного поведения у животных, получавших ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг.

Для ДАБ-21 не характерно изменение функционально- поведенческого статуса животных, изученного по методу S.Irwin (Таблица 8.3) в дозе 1,26 мг/кг и превышающие таковую в 20 раз – 25 мг/кг и 50 раз – 63 мг/кг. Минимальные нейротоксические эффекты, связанные с изменением поведенческих (вокализация) и нервно-мышечных реакций (реакция на прикосновение), а также вегетативных эффектов (увеличение птоза) отмечаются при введении ДАБ-21 в дозе превышающей 1,26 мг/кг в 100 раз – 126 мг/кг.

Таблица 8.3 – Динамика изменения параметров функционально-поведенческого статуса мышей при однократном внутрижелудочном введении соединения ДАБ-21 в зависимости от дозы

Тестируемые параметры	Норма	ДАБ-21			
		1,26 мг/кг	25 мг/кг	63 мг/кг	126 мг/кг
Поведенческие реакции					
Вокализация	0	-	-	-	-(↑)
Настороженность	4	-	-	-	-
Пассивность	4	-	-	-	-
Стереотипия	0	-	-	-	-
Беспокойство	0	-	-	-	-
Агрессия	0	-	-	-	-
Груминг	4	-	-	-	-
Спонтанная двиг. акт-ть	4	-	-	-(↓)	-
Нервно-мышечная возбудимость					
Реакция на прикосновение	4	-	-	-	-(↑)
Реакция на боль	4	-	-	-	-
Реакция на стук	4	-	-	-	-
Тремор	0	-	-	-	-
Подергивание	0	-	-	-	-
Судороги	0	-	-	-	-
Расстройство походки	0	-	-	-	-
Тонус конечностей	4	-	-	-	-
Вегетативные эффекты					
Птоз	4	-	-	-	-(↑)
Размер зрачка	4	-	-	-	-
Саливация	0	-	-	-	-
Уринация	4	-	-	-	-
Дефекация	4	-	-	-	-
Температура	4	-	-	-	-
Цвет кожи	4	-	-	-	-
ЧДД	4	-	-	-	-

Примечания: «-» - отсутствие изменений тестируемого параметра от нормы; ↓ – изменения, связанные с ослаблением тестируемого показателя; ↑ – изменения, связанные с усилением тестируемого показателя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Производные диазепино[1,2-α]-бензимидазола являются новым перспективным классом веществ, имеющим в своей структуре диазепиновый и бензимидазольный фрагменты. Учитывая фармакологическую активность производных диазепина и бензимидазола, широко освещенную в научной литературе, а также проведенный ранее компьютерный прогноз спектра фармакологической активности в системе PASS, предполагается выраженный транквилизирующий потенциал изучаемых соединений.

При первичном поиске веществ с анксиолитическим потенциалом в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» все 15 изученных соединений производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола под шифрами ДАБ-9, ДАБ-10, ДАБ-16, ДАБ-21, ДАБ-32, ДАБ-33, ДАБ-34, ДАБ-35, ДАБ-36, ДАБ-39, ДАБ-40, ДАБ-41, ДАБ-43, ДАБ-44 и ДАБ-45, синтезированных в лаборатории органического синтеза НИИ ФОХ ЮФУ (г.Ростов-на-Дону), проявили различный уровень анксиолитического эффекта. Наиболее выраженную противотревожную активность, сопоставимую с группой препарата сравнения диазепама или превосходящую таковую, показали соединения ДАБ-21, ДАБ-41 и ДАБ-45. Было доказано, что наличие таких радикальных заместителей в положение N^{11} производных диазепино[1,2-α]-бензимидазола как: 2-(1-пирролидил)этил (ДАБ-21), 4-хлорбензил (ДАБ-41) и 4-трет-бутилфенил (ДАБ-45) приводит к развитию выраженного анксиолитического действия, а так же не вызывает миорелаксации. Остальные 13 соединений показали менее выраженный уровень противотревожной активности, что свидетельствует о меньшем либо недостаточном влиянии радикальных заместителей данных групп на проявление анксиолитического действия. Для проведения углубленного изучения транквилизирующей активности было выбрано соединение лидер – ДАБ-21.

При изучении анксиолитического действия соединения ДАБ-21 в зависимости от времени и от дозы в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» было показано, что исследуемое вещество проявляет анксиолитическую активность в широком диапазоне доз от 0,00013 мг/кг до 29 мг/кг, а противотревожный эффект соединения ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг) постепенно исчезает к 24 часам после введения, что может являться доказательством длительного действия вещества. При углубленном изучении анксиолитической активности соединения ДАБ-21 на моделях «Темная-светлая камера», «Наказуемое взятие воды по Vogel», «Оценка тревожно-фобического состояния» и «Открытое поле» были доказаны и расширены ранее полученные данные о наличии противотревожной активности изучаемого вещества.

В результате изучения иных нейропсихотропных эффектов соединения ДАБ-21 было показано что вещество проявляет различный спектр транквилизирующих свойств. Так, было доказано наличие у соединения ДАБ-21 антикомпульсивной активности в тесте «Закапывание шариков». При изучении влияния соединения ДАБ-21 на зоосоциальное поведение животных в тесте «Резидент-интрудер» было доказано влияние изучаемого вещества на снижение агрессивности и отсутствие влияния на коммуникативность. По результатам изучения антидепрессивной активности в тестах «Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание за хвост» был сделан вывод о наличии у соединения ДАБ-21 антидепрессивной активности. В тестах «Отдергивания хвоста» и «Облизывание лапки» было доказано, что изучаемое вещество проявляет умеренную анальгетическую активность.

При проведении фармакологического анализа взаимодействия соединения ДАБ-21 с многими агонистами/антагонистами различных нейромедиаторных систем было показано, что изучаемое вещество обладает полимодальным механизмом действия. Так, по результатам тестов с флумазенилом было доказано присутствие ГАМК-ергического звена в механизме действия соединения ДАБ-21. В результате увеличения эффектов 5-гидрокситриптофана так же было доказано влияние вещества ДАБ-21 на моноаминергческую систему. По ряду проведенных тестов с фенамином, L-ДОФА, галоперидолом было доказано влияние соединения ДАБ-21 на дофаминергическую систему.

При изучении токсичности вещества ДАБ-21 и изучении побочных эффектов было показано, что (LD50) ДАБ-21 у мышей-самцов при внутрижелудочном введении составляет 826,1 мг/кг, и превосходит по безопасности аналогичный показатель диазепама. Найденная опытным путем доза LD50 относит изучаемое соединение к третьему классу токсичности [ГОСТ 12.1.007–76, 1976].

По результатам изучения функционально-поведенческого статуса животных, изученного по методу S.Irwin, было доказано, что соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг и превышающую таковую в 20 раз не вызывает нейротоксикологических эффектов. Было замечено, что минимальные нейротоксические эффекты отмекаются при введении соединения ДАБ-21 в дозе превышающей 1,26мг/кг в 100 раз.

По результатам изучения аддиктивных свойств соединения ДАБ-21 в тесте «Условная реакция предпочтения места» было доказано, что изучаемое вещество не вызывает аддикции.

В результате исследования был проведен скрининг новых производных диазепинобензимидазола, по результатам которого было найдено соединение-лидер ДАБ-21. Доказана выраженная анксиолитическая активность данного вещества, превосходящая активность препарата сравнения диазепама по ряду тестовых моделей. Была предположена реализация механизма действия изучаемого соединения посредством аллостерической модуляции ГАМК-рецепторного комплекса, а также влияния на моноаминергическую систему.

Данное соединение можно отнести к третьему классу токсичности, что свидетельствует о его безопасности.

ВЫВОДЫ

1. Производные на основе скаффолдов: 11-диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола, 11-алкил- и бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола и 11-фенацил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола проявили выраженную анксиолитическую активность, превосходящую активность скаффолдов: 11-ацетамидо-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола и 11-карбокси-(карбэтокси)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола, являются перспективными для направленного поиска веществ с противотревожной активностью.
2. При изучении анксиолитической активности 15 производных 2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-a]бензимидазола было показано, что вещества проявляют различный уровень противотревожного действия в зависимости от радикальных заместителей в положении N11 базовой структуры. Так, соединение, содержащее 2-(1-пирролидил) - этильный радикал (ДАБ-21), проявило высокую анксиолитическую активность, превосходящую таковую препаратов сравнения диазепама и афобазола. Соединение, содержащее 4-хлорбензильный радикал (ДАБ-41) и соединение, содержащее 4-трет-бутилфенильный радикал (ДАБ-45), проявили анксиолитическую активность, соответствующую таковой диазепама. Вещество, содержащее 4-фторфенильный радикал (ДАБ-43), проявило умеренную анксиолитическую активность, уступающую препарату сравнения диазепаму. Соединения, содержащие такие радикалы как: 4-метоксифенацил (ДАБ-9), 3,4-дихлорфенил (ДАБ-10), 4-бромфенил (ДАБ-16), 4-фторфенацил (ДАБ-32), 4-трет-бутилфенил (ДАБ-33), 2-(1-морфолинил) - этил (ДАБ-34), уксусная кислота (ДАБ-35), 4-хлорбензил (ДАБ-36, ДАБ-41), 3,4-дихлорбензил (ДАБ-39, ДАБ-40), 4-фторфенил (ДАБ-44) не проявили выраженной анксиолитической активности. Введение метильных групп в положениях С8 и С9 базовой структуры соединений приводит к снижению анксиолитической активности.
3. Соединение ДАБ-21 (в дозе 1,26 мг/кг, эквимолярной препарату сравнения диазепаму 1 мг/кг) проявляет выраженное противотревожное действие, превосходящее препараты сравнения диазепам (1 мг/кг) и афобазол (5 мг/кг) в модели ситуативной тревожности: «Приподнятый крестообразный лабиринт», и превосходящее диазепам (1 мг/кг) в тестах «Темная-светлая камера», «Оценка тревожно-фобического состояния», «Открытое поле» и «Наказуемое взятие воды по Vogel».

4. Соединение ДАБ-21 оказывает анксиолитическое действие в широком диапазоне доз - от 0,01 мг/кг до 29 мг/кг, постепенно снижая свою активность через 12 часов после введения соединения.
5. Вещество ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг на протяжении 24 часов с момента внутрижелудочного введения не оказывает выраженного миорелаксирующего действия.
6. Соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении проявляет выраженное антикомпульсивное действие (тест «Закапывание шариков»); статистически снижает агрессивное поведение относительно контроля и не влияет на коммуникативность (тест «Зоосоциальное поведение»).
7. Вещество ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении оказывает умеренное антидепрессивное действие, не превосходящее показатели амитриптилина (10 мг/кг) и имипрамина (8 мг/кг) (тесты «Подвешивание за хвост» и «Принудительное плавание по Porsolt»).
8. Изучаемое соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении демонстрирует умеренное анальгетическое действие - блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном уровне (тест «Горячая пластина»), и не влияет на спинальный уровень (тест «Отдергивания хвоста»).
9. Анксиолитический эффект вещества ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении снижается при совместном введении с флумазенилом в дозе 1 мг/кг на 88,2 %.
10. Соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении статистически увеличивало: эффекты 5-гидрокситриптофана; действие фенамина; потенцировало эффекты L-ДОФА и снижало действие галоперидола. Соединение ДАБ-21 не влияло на эффекты: никотина; ареколина; клофелина; резерпина; пикротоксина.
11. При изучении нейротоксических изменений соединения ДАБ-21 по методу S.Irwin установлено, что вещество ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг (внутрижелудочное введение) и превышающей таковую в 20 раз не вызывает нейротоксических эффектов. Минимальные нейротоксические эффекты (вокализация, реакция на прикосновение, увеличение птоза) отмечаются при введении соединения ДАБ-21 в дозе, превышающей 1,26 мг/кг в 100 раз; в тесте «Условное предпочтение места» соединение ДАБ-21 в дозе 1,26 мг/кг при внутрижелудочном введении в отличие от препарата сравнения диазепама не вызывало выработки УРПМ.
12. Величина LD50 у мышей-самцов при внутрижелудочном введении составляет 826,10 мг/кг, что позволяет отнести изучаемое соединение к третьему классу токсичности [ГОСТ 12.1.007–76, 1976].

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Синтез и поиск веществ с нейропсихотропной активностью среди новых производных скаффолда 11-диалкиламиноэтил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-α]-бензимидазола является перспективным направлением.
2. Соединение ДАБ-21 (11-[2-(пирролидин-1-ил)-2,3,4,5-тетрагидродиазепино[1,2-а]бензимидазола дигидрохлорид), проявляющее широкий спектр нейропсихотропных свойств – анксиолитической, антидепрессивной и анальгетической активностей, является перспективным веществом для дальнейшего детального и расширенного доклинического изучения.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

5-HT – серотониновый рецептор

5-ГТФ – 5-гидрокситриптофан

AMPA – рецептор α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты

CCK-4 – тетрапептид холецистокинина

DOR – дельта-опиоидный рецептор

D-рецептор – дофаминовые рецепторы

GPCR – рецепторы, сопряжённые с G-белком

L-ДОФА – L-диоксифенилаланин

mGluRs – метаботропные глутаматные рецепторы

NAM – отрицательные аллостерические модуляторы

NMDA - рецептор связывающий N-метил-D-аспартат

PAM – положительные аллостерические модуляторы

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances (программа компьютерного прогноза)

PBR – периферический бензодиазепиновый рецептор

PPAR – рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами

TRPC – ионные каналы транзиторного рецепторного потенциала

TSPO – транслокаторный белок (18 кДа)

АМФ – аденозинмонофосфат

ГАМК, GABA - γ-аминомасляная кислота

GAT – основной транспортер ГАМК

МАО – моноаминоксидаза

Н-рецепторы – гистаминовые рецепторы

ОП – установка «Открытое поле»

ПКЛ – установка «Приподнятый крестообразный лабиринт»

ПТСР – посттравматическое стрессовое расстройство

ТМ – трансмембранный домен

ТСК – установка «Темная-светлая камера»

ТФС – тест «Оценка тревожно-фобического состояния животных»

ЦНС – центральная нервная система

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агацарская, Я. В. Нейрорецепторные эффекты антимигренозного агента 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил) имидазо [1, 2-A] бензимидазола/Я.В. Агацарская, Д.С. Яковлев, Д.С. Мальцев [и др.] //Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2019. – №. 1 (69).-С.-120-124.

2. Александровский, Ю. А. Социогенные психические расстройства / Ю.А. Александровский //Российский психиатрический журнал. – 2014. – №. 3.-С-19-23.

3. Андреева, Н.И. Методические указания по изучению антидепрессантной активности фармакологических веществ [Текст] / Н.И. Андреева // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – С. 244-253.

4. Анисимова, В. А. Синтез и фармакологическая активность хлоридов 3-(N, N-дизамещенных) ацетамидов-1-R-2-аминобензимидазолия / В.А. Анисимова, А.А. Спасов, В.А. Косолапов [и др.] //Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46. – №. 9. – С. 6-10.

5. Арзамасцев, Е. В. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств / Е.В. Арзамасцев, И.В. Березовская, О.Л. Верстакова //Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – 2012. – С. 13-24.

6. Арушанян, Э. Б. Сравнительная оценка эпифизарного мелатонина и бензодиазепиновых анксиолитиков / Э.Б. Арушанян //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75. – №. 3. – С. 35-40.

7. Багметова, В. В. и др. Изучение острой токсичности цитрокарда-нового производного фенибута с кардио-и нейропротекторным действием / В.В. Багметова, Л.И. Бугаева, И.Н. Тюренков [и др.] //Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – №. 1 (61).С-33-35.

8. Бачурин, С. О. Современные подходы к поиску препаратов для лечения болезни альцгеймера и сходных нейродегенеративных заболеваний /С.О. Бачурин //Неделя науки-2018. – 2018. – С. 4

9. Беккер, Р. А. Афобазол(фабомотизол): анксиолитик, и не только(израильско-российский взгляд на проблему) / Р.А. Беккер, Ю.В. Быков //Психиатрия и психофармакотерапия. – 2017. – Т. 19. – №. 4. – С. 12-21.

10. Беккер, Р. А. Клоназепам: обзор новейших данных по применению / Р.А. Беккер, Ю.В. Быков //Психиатрия и психофармакотерапия. – 2017. – Т. 19. – №. 1. – С. 17-29.

11. Беленький, М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький //Л.: Медицина. – 1963. – С. 81-86.

12. Бородин, В. И. Побочные эффекты транквилизаторов и их роль в пограничной психиатрии / В.И. Бородин //Фундаментальные аспекты психического здоровья. – 2016. – №. 1. – С. 19-22.
13. Бригадирова, А. А. Фармакологические свойства новых производных бифенила : дис. – автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. медицинских наук (14.03. 06), 2017/Бригадирова Анастасия Андреевна
14. Бугаева, Л. И. Влияние нового производного глутаминовой кислоты с антидепрессантным и анксиолитическим действиями на процессы пренатального и постнатального развития потомства / Л.И. Бугаева, Т.Д. Денисова, И.Н. Тюренков [и др.] //Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2019. – №. 4 (72).С-65-68.
15. Бугаева, Л. И. Исследование острой токсичности бромантана / Л.И. Бугаева, В.Е. Веровский, И.Н. Иежица //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2000. – Т. 63. – №. 1. – С. 57-61.
16. Ветгиева, М. С. и др. Эволюция подходов в лечении острого болевого синдрома (обзор) / М.С. Ветгиева, О.Л. Подкорытова, В.О. Чураков [и др.]//Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 4. – №. 39. – С. 28-34
17. Вознесенская, Т. Г. Генерализованное тревожное расстройство: дифференциальный диагноз и лечение / Т.Г. Вознесенская // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2013. – №. 2.-С.18-21.
18. Воробьева, О. В. Лечение стресс-индуцированных тревожных расстройств в терапевтической практике / О.В. Воробьева, В.В. Репина //Лечащий врач. – 2016. – №. 10. – С. 39-39.
19. Воронина, Т. А. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств /Т.А. Воронина, Р.У. Островская, Т.Л. Гарибова//Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть. – 2012. – Т. 1.
20. Воронина, Т. А. Перспективы развития современных анксиолитиков / Т.А. Воронина //Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 7. – №. 4. – С. 1-1645
21. Воронина, Т. А. Перспективы поиска новых анксиолитиков / Т.А. Воронина, С.Б. Середенин //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65. – №. 5. – С. 4-17.
22. Гамма, Т. В. Эффекты воздействия бензимидазола и некоторых его производных на параметры электрических потенциалов нейронов моллюска / Т.В. Гамма, И.И. Корнелюк, М.Ю. Баевский [и др.] // Ученые записки Крымского федерального университета имени ВИ Вернадского. Биология. Химия. – 2003. – Т. 16. – №. 1 (55).-С.20-26.

23. Гречко, О. Ю. Анальгетическая активность производного бензимидазола на моделях воспалительной боли / О.Ю. Гречко, Н.В. Елисеева, А.А. Спасов [и др.]//Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2016. – №. 2 (58).-С.101-103.

24. Гречко, О. Ю. Опиоидные к-Рецепторы как молекулярная мишень для создания нового поколения обезболивающих лекарственных средств / О.Ю. Гречко, А.А. Спасов, Д.М. Штарёва // Химико-фармацевтический журнал. – 2016. – Т. 50. – №. 1. – С. 3-11.

25. Григорьева, Е. А. К вопросу о подготовке новой МКБ / Е.А. Григорьева, Л.К. Хохлов //Социальная и клиническая психиатрия. – 2010. – Т. 20. – №. 1.-С.20-21.

26. Давыдов, О. С. Антиконвульсанты при неэпилептических состояниях / О.С. Давыдов // Epilepsia and paroxyzmal conditions. – 2016. – Т. 4. – №. 3. – С. 54-55.

27. Данилов, Д. С. Атипичный нейролептик клозапин (азалептин): спектр терапевтических эффектов и повторная оценка эффективности при лечении шизофрении / Д.С. Данилов//Социальная и клиническая психиатрия. – 2011. – Т. 21. – №. 4.-С.58-62.

28. Данилов, Д. С. История трициклических антидепрессантов и ее значение для современной психофармакотерапии / Д.С. Данилов //социальная и клиническая психиатрия. – 2019. – Т. 29. – №. 2.-С.65-78.

29. Сычев, Д. А. Постепенная отмена (депрескрайбинг) бензодиазепиновых транквилизаторов / Д.А. Сычев, А.В. Жучков, О.В. Терещенко [и др.]//Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2019. – Т. 11. – №. 1. – С. 89-95.

30. Зефирова, О. Н. Об истории возникновения и развития концепции биоизостеризма / О.Н. Зефирова, Н.С. Зефиров//Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2002. – Т. 43. – №. 4.-С.251-256.

31. Ковалев, Г. В. Ноотропные средства. /Г.В. Ковалев – Волгоград: Ниж //Волж. кн. издво. – 1990.

32. Ковалев, Д. Г. Изучение in silico механизма антидепрессивной активности соединения VMA-99-82 методом молекулярного моделирования/Д.Г. Ковалев, П.М. Васильев, А.А. Озеров //Астраханский медицинский журнал. – 2015. – Т. 10. – №. 1.

33. Ковалев, Д. Г. Изучение антидепрессивной активности и механизма действия нового соединения пир-03-52 / Д.Г. Ковалев, Т.М. Лысенко //Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2007. – №. 1 (21). -С. 16-18.

34. Краснов, В. Н. Новые подходы к лечению стрессовых и тревожных расстройств: результаты многоцентрового исследования эффективности афобазола в психиатрической практике / В.Н. Краснов, Д.Ю. Вельтищев, А.В. Немцов [и др.]//Психиатрия и психофармакотерапия. – 2007. – Т. 9. – №. 4. – С. 16-20.

35. Краснов, В. Н. Тревожно-депрессивные расстройства у пациентов первичной медицинской сети / В.Н. Краснов, Т.В. Довженко, Е.А. Бобров //Медицинский вестник. – 2010. – Т. 11. – С. 516.

36. Ладыженский, М. Я. Бензодиазепиновые анксиолитики: востребованы ли они сегодня? / М.Я. Ладыженский, А.В. Городничев, Е.Г. Костюкова //Современная терапия психических расстройств. – 2014. – №. 2. – С. 20-25.

37. Лебедев, А. А. Антагонист рецепторов кортиколиберина астрессин снимает тревожно-фобические состояния у крыс, выращенных в социальной изоляции/ А.А. Лебедев, А.Г. Пшеничная, Е.Р. Бычков //Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14. – №. 4.-С. 24-29.

38. Левин, О. С. Тревожные расстройства в общеклинической практике / О.С. Левин //Медицинский совет. – 2017. – №. 10.-С. 36-40.

39. Медведев, В. Э. Предпосылки использования витаминных комплексов в адъювантной терапии психических расстройств / В.Э. Медведев //Лечащий врач. – 2015. – Т. 9. – С. 2-7.

40. Менделевич, В. Д. Проблема аддиктофобии в современной психиатрии (бензодиазепины и другие психофармакологические средства) / В.Д. Менделевич//Журнал неврологии и психиатрии. – 2019. – Т. 1. – №. 2.- С. 75-81.

41. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. А.Н.Миронов, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев [и др.] – 2012.

42. Незнамов, Г. Г. Методологические аспекты клинического исследования терапевтического действия новых анксиолитиков / Г.Г. Незнамов, С.А. Сюняков, Д.В.Чумаков [и др.]//Биомедицина. – 2010. – №. 3. – С. 108-110.

43. Неймарк, М. И. Пути реализации принципа ERAS при гинекологических эндовидеоскопических операциях / М.И. Неймарк, С.А. Хаустова, Е.А. Маркова [и. др]//Акушерство и Гинекология Санкт-Петербурга. – 2019. – №. 1. – С. 47-50.

44. Нечаев, М. О. Противосудорожные средства в наркологической практике. Перспективы персонализированного применения / М.О. Нечаев, Д.А. Сычев, М.С. Застрожин [и др.]//Наркология. – 2017. – Т. 16. – №. 9. – С. 103-116.

45. Новоселецкая, А. В. Изучение условного рефлекса пассивного избегания в трех камерной установке: эффект пирацетама, диазепама и тактивина / А.В. Новоселецкая, Н.М. Киселева, А.Н. Иноземцев //Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2018. – Т. 20. – №. 9. – С.108-115.

46. Осадший, Ю. Ю. Место бензодиазепинов в современной терапии психических расстройств (обзор доказательных исследований / Ю.Ю. Осадший, Р.А. Вобленко, Д.С. Арчаков //Современная терапия психических расстройств. – 2016. – №. 1. – С. 2-10.

47. Островская, Р. У. Методические рекомендации по изучению нейролептической активности лекарственных средств / Р.У. Островская, К.С. Раевский, Т.А. Воронина //Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: под ред. АН Миронова.–Ч. – 2012. – Т. 1. – С. 251-263.

48. Петров, В. И. Основные результаты доклинического изучения субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокси) этил] аденина, обладающего психотропной активностью / В.И. Петров, А.А. Озеров, М.С. Новиков [и др.]//Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №. 3. – С. 13-13.

49. Петров, В. И. Современные направления исследований и клинического применения глутаматергических средств / В.И. Петров, Н.В. Онищенко//Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65. – №. 4. – С. 66-70.

50. Полковникова, Ю. А. Возможности создания пролонгированных лекарственных форм афобазола (обзор) / Ю.А. Полковникова, Э.Ф. Степанова//Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2011. – Т. 13. – №. 4 (99). – С. 190-193.

51. Полуэктов М. Г. Инсомния на фоне зависимости от приема снотворных препаратов / М.Г. Полуэктов, П.В. Пчелина //Обозрение психиатрии и медицинской психологии имени ВМ Бехтерева. – 2017. – №. 1. – С. 75-80.

52. Порсева, Н. Ю. Регламентация обращения лекарственных препаратов, производных бензодиазепина / Н.Ю. Порсева, О.Н. Дворская, А.В. Солонинина//Современные проблемы науки и образования. – 2013. – №. 3. – С. 357-357.

53. Решетников, М. М. Психическое здоровье населения современные тенденции и старые проблемы / М.М. Решетников //Национальный психологический журнал. – 2015. – №. 1 (17). – С. 9-14.

54. Семьянов, А. В. ГАМК-эргическое торможение в ЦНС: типы ГАМК-рецепторов и механизмы тонического ГАМК-опосредованного тормозного действия / А.В. Семьянов //Нейрофизиология. – 2002. – Т. 34. – №. 1. – С. 82-92.

55. Середенин, С. Б., Воронин М. В. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола / С.Б. Середенин, М.В. Воронин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72. – №. 1. – С. 3-11.

56. Середенин, С. Б. Сигма-1 рецепторы—новая мишень фармакологической регуляции / С.Б. Середенин, М.В. Воронин, Е.В. Абрамова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80. – №. 9. – С. 9-19.

57. Сиволап, Ю. П. Антидепрессанты: цели и возможности терапии / Ю.П. Сиволап //Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова. – 2018. – Т. 118. – №. 12. – С. 120-124.

58. Спасов, А. А. Поиск антигистаминных веществ, среди имидазо-и триазоло-бензимидазолов /А.А. Спасов, М.В. Черников, В.А. Анисимова [и др.] //Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Т. 34. – №. 2. – С. 6-10.

59. Спасов, А. А. Анксиолитический потенциал нового ряда производных диазепинобензимидазола / А.А.Спасов, Л.Н.Диваева, Д.В. Мальцев [и др.]//Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2018. – №. 3 (67).- С. 19-23.

60. Спасов, А. А. Антитромботическая активность нового производного тетрагидро [1, 3] диазепино [1, 2-а]-бензимидазола соединения даб-15 на модели артериального тромбоза / А.А.Спасов, В.С. Сиротенко, К.А. Гайдукова [и. др] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2016. – №. 1 (57). – С. 56-58.

61. Спасов, А. А. Производные имидазо [1, 2-а] бензимидазола как антагонисты 5-НТ 2-рецепторов / А.А. Спасов, Д.С. Яковлев, Д.В. Мальцев [и др.] // Биоорганическая химия. – 2016. – Т. 42. – №. 4. – С. 440-440.

62. Спасов, А. А. Рецептор-зависимые механизмы противосудорожного действия производного бензимидазола РУ-1205 в сравнении с диазепамом и U-50,488 H / А.А. Спасов, О.Ю. Гречко, К.Ю. Калитин [и др.]// Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – №. 2. – С. 3-6.

63. Спасов, А. А. Участие каппа-рецепторов и p38 MAPK в реализации боли / А.А. Спасов, О.Ю.Гречко, П.М. Васильев [и др.] // Российский журнал боли. – 2019. – Т. 17. – №. S1. – С. 22-23.

64. Спасов, А. А. Фармакокинетика некоторых производных бензимидазола / А.А. Спасов, Л.А.Смирнова, И.Н. Иёжица [и др.] //Вопросы медицинской химии. – 2002. – Т. 48. – №. 3. – С. 233-258.

65. Спасов, А. А. Опиоидный каппа-рецептор: молекулярная структура и функции / А.А. Спасов, О.Ю. Гречко, Д.М. Штарёва [и др.] //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77. – №. 11. – С. 27-35.

66. Спасов, А. А. 5-НТ3-рецепторы-мишень для воздействия биологически активных соединений (обзор) / А.А.Спасов, Д.С. Яковлев //Химико-фармацевтический журнал. – 2013. – Т. 47. – №. 8. – С. 3-8.

67. Спасов, А.А. Анксиолитическая активность производных 11Н-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-α]-бензимидазола И 2-меркаптобензимидазола / А.А. Спасов, О.Н. Жуковская, Д.В. Мальцев // Биоорганическая химия. – 2020.-том 46, № 1. – С. 92 – 100.

68. Сюняков, Т. С. Механизмы анксиогенеза и терапия тревоги / Т.С. Сюняков, С.А. Сюняков, О.А. Дорофеева//Психиатрия и психофармакотерапия. – 2011. – Т. 13. – №. 6. – С. 9-16.

69. Таран, А. С. Изучение анксиолитической активности в ряду новых производных диазепинобензимидазола на установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» / А.С.Таран, Д.В. Мальцев, Д.С. Яковлев//Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2017. – №. 1 (53). – С. 24-26.
70. Тюренков, И. Н. ГАМКА-рецепторы: структура и функции / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова//Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73. – №. 10. – С. 43-48.
71. Тюренков, И. Н. Роль ГАМК-рецепторов в развитии патологических процессов / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова//Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74. – №. 2. – С. 47-52.
72. Усова, А. А. Применение транквилизаторов в период беременности (обзор литературы) / А.А. Усова, И.В. Напалков, Т.Т. Иванова//Омский психиатрический журнал. – 2018. – №. 4 (18). – С.20-24.
73. Хаустова, Е. А. Современные представления о диагностике и терапии тревожных расстройств / Е.А. Хаустова, В.Г. Безшейко // Международный неврологический журнал. – 2012. – №. 2 (48). – С. 52-60.
74. Холмогорова, А. Б. Значение классификации психических расстройств для развития методов психотерапии (на примере тревожных расстройств) / А.Б. Холмогорова //Социальная и клиническая психиатрия. – 2014. – Т. 24. – №. 3. – С. 51-56.
75. Черников, М. В. Производные бензимидазола-модуляторы рецепторов биологически активных веществ //дисс.… док. мед. наук. – 2008. – Т. 14. – С. 25.
76. Черников, М. В. Компьютерный скрининг новых производных бензимидазола с высокой 5-НТ «3»-антисеротониновой активностью на базе информационной технологии «Микрокосм» / М.В.Черников, П.М.Васильев//Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2006. – №. 2. – С. 7-8.
77. Шабанов, П. Д. Влияние фенамина на поведенческие компоненты обсессивно-компульсивного и аддиктивного игрового поведения в тесте закапывания шариков у крыс / П.Д. Шабанов, А.А. Лебедев, Н.Д. Якушина//Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14. – №. 3. – С. 46-52.
78. Шабанов, П. Д. Грелиновая система мозга участвует в контроле эмоционально-исследовательского поведения и двигательной активности крыс, выращенных в условиях стресса социальной изоляции / П.Д. Шабанов, П.М. Виноградов, А.А. Лебедев [и др.]//Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – №. 4. – С. 38 – 45.

79. Шабанов, П. Д. Моделирование обсессивно-компульсивного и аддиктивного игрового поведения у крыс введением фенамина в тесте закапывания шариков / П.Д. Шабанов, А.А. Лебедев, Н.Д. Якушина [и др.]//Наркология. – 2017. – Т. 16. – №. 1. – С. 32-38.

80. Шабанов, П. Д. Экспериментальное исследование нового анксиолитика транквиридина П.Д. Шабанов, А.И. Морозов, А.А. Лебедев [и др.]//Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т. 15. – №. 2. – С. 5-14.

81. Щербакова, И. В. Психофармакотерапия тревожных расстройств: современный взгляд на проблему / И.В. Щербакова, В.Ю. Крылатых, Л.М. Барденштейн//Российский медицинский журнал. – 2017. – Т. 23. – №. 2. – С. 107 -112.

82. Яковлев, Д. С. 5-НТ2А-антагонистическая активность С2, N9-дизамещенных имидазо [1, 2-А] бензимидазолов / Д.С. Яковлев, А.А. Спасов, Д.В. Мальцев [и др.]//Сборник трудов научно-практической конференции профессорско-преподавательского коллектива, посвященной 80-летию Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – С. 54-56.

83. Яковлев Д.С. Конденсированные азолы - новый класс лигандов серотониновых рецепторов [Текст] / Волгоград:2016. - дисс.... докт. мед. наук: 14.03.06/Яковлев Дмитрий Сергеевич.

84. Яковлев, Д. С. Анксиолитические свойства соединения РУ-1204-нового 5-НТ3-антагониста / Д.С. Яковлев, А.А. Спасов, В.А. Анисимова//Инновационные достижения фундаментальных и прикладных медицинских исследований в развитии здравоохранения Волгоградской области. – 2010. – С. 246-251.

85. Яковлева, Е. С. Роль анестезиолога в проведении магнитно-резонансной томографии у детей/ Е.С. Яковлева, В.В. Лазарев, А.В. Диориев//Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2019. – Т. 9. – №. 2. – С. 97 -104.

86. Aastha, P. 1, 5 Benzodiazepines: overview of properties and synthetic aspects /P. Aastha, K. Navneet, A. Anshu [et al.] // Research Journal of Chemical Sciences. –2013. – 3(7). - P. 90-103

87. Ait-Daoud, N. A review of alprazolam use, misuse, and withdrawal / N. Ait-Daoud, A.S. Hamby, S.Sharma [et al.]//Journal of addiction medicine. – 2018. - Vol. 12. – №. 1. – P. 4.

88. Akbar, S. Characterization of 6-methoxyflavanone as a novel anxiolytic agent: A behavioral and pharmacokinetic approach / S. Akbar, F. Subhan, N.Karim [et al.] //European journal of pharmacology. – 2017. - Vol. 801. – P. 19-27.

89. Alachkar, A. histamine h3 receptor antagonist e177 attenuates amnesia induced by dizocilpine without modulation of anxiety-like behaviors in rats / A. Alachkar, N. Khan, D. Łażewska [et al.]//Neuropsychiatric disease and treatment. – 2019. - Vol. 15. – P. 531.

90. Albott, C. S. The Antidepressant Effect of Repeat Dose Intravenous Ketamine Is Delayed by Concurrent Benzodiazepine Use / C.S. Albott, P.R. Shiroma, K.R. Cullen [et al.]//The Journal of clinical psychiatry. – 2017. - Vol. 78. – №. 3. – P. e308.

91. Anderson, G. Linking the biological underpinnings of depression: role of mitochondria interactions with melatonin, inflammation, sirtuins, tryptophan catabolites, DNA repair and oxidative and nitrosative stress, with consequences for classification and cognition / G. Anderson//Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2018. - Vol. 80. – P. 255-266.

92. Andrews, G. Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists clinical practice guidelines for the treatment of panic disorder, social anxiety disorder and generalised anxiety disorder / G. Andrews, C. Bell, P. Boyce [et al.]//Australian & New Zealand Journal of Psychiatry. – 2018. - Vol. 52. – №. 12. – P. 1109-1172.

93. Arbo, B. D. Therapeutic actions of translocator protein (18 kDa) ligands in experimental models of psychiatric disorders and neurodegenerative diseases / B.D. Arbo, F. Benetti, L.M. Garcia-Segura [et al.]//The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. – 2015. - Vol. 154. – P. 68-74.

94. Babkov, D. A. Towards multi-target antidiabetic agents: Discovery of biphenyl-benzimidazole conjugates as AMPK activators / D.A. Babkov, O.N. Zhukowskaya, A.V. Borisov [et al.] //Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2019. - Vol. 29. – №. 17. – P. 2443-2447.

95. Bacon, E. M. et al. Substituted 2, 3, 4, 5, 7, 9, 13, 13a-octahydro-1, 5-methanopyrido [1', 2': 4, 5] pyrazino [1, 3] diazepines and methods for treating viral infections : заяв. пат. 16017371 США. – 2019.

96. Bahi, A. Anxiolytic and antidepressant-like activities of the novel and potent non-imidazole histamine H3 receptor antagonist ST-1283 / A. Bahi, J.S. Schwed, M. Walter [et al.]//Drug design, development and therapy. – 2014. - Vol. 8. – P. 627.

97. Bandelow, B. et al. Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD: A consensus statement. Part II: Neurochemistry, neurophysiology and neurocognition / B. Bandelow, D. Baldwin, M. Abelli [et al.] //The World Journal of Biological Psychiatry. – 2017. - Vol. 18. – №. 3. – P. 162-214.

98. Bandelow, B., Michaelis S., Wedekind D. Treatment of anxiety disorders / B. Bandelow, S. Michaelis, D. Wedekind //Dialogues in clinical neuroscience. – 2017. - Vol.19. – №. 2. – P. 93.

99. Bartlett, A. A., Singh R., Hunter R. G. Anxiety and epigenetics / A.A. Bartlett, R. Singh, R.G. Hunter//Neuroepigenomics in Aging and Disease. – Springer, Cham, 2017. – P. 145-166.

100. Bektas, H. Synthesis, Antioxidant, and Antibacterial Activities of Some New 2- (3-fluorobenzyl)- 1H- benzimidazole Derivatives / H. Bektas, C. Albay, B.B. Sökmen [et al.]//Journal of Heterocyclic Chemistry. – 2018. - Vol. 55. – №. 10. – P. 2400-2407.

101. Bell, C. Rapid tryptophan depletion following cognitive behavioural therapy for panic disorder / C. Bell, S. Hood, J. Potokar [et al.]// Psychopharmacology. – 2011. - Vol. 213. – №. 2-3. – P. 593-602.

102. Belmer, A. 5-HT1A receptor-dependent modulation of emotional and neurogenic deficits elicited by prolonged consumption of alcohol / A. Belmer, O.L. Patkar, V. Lanoue [et al.]//Scientific reports. – 2018. - Vol.8. – №. 1. – P. 2019.

103. Bertrand, H. G. M. J. Preliminary assessment of midazolam, fentanyl and fluanisone combination for the sedation of rhesus macaques (Macaca mulatta) / H. G. M. J. Bertrand, C.F. Sandersen, P.A. Flecknell //Laboratory animals. – 2017. - Vol.51. – №. 4. – P. 405-411.

104. Blanchard, D. C. Handbook of anxiety and fear./ D.C. Blanchard, G. Griebel, D.J. Nutt // Elsevier, 2011. - Vol.17.

105. Bortolato, M. From aggression to autism: new perspectives on the behavioral sequelae of monoamine oxidase deficiency / M. Bortolato, G. Floris, J.C. Shih // Journal of Neural Transmission. – 2018. - Vol.125. – №. 11. – P. 1589-1599.

106. Bostwick, J. R. Benzodiazepines: A versatile clinical tool; evidence supports their use for alcohol withdrawal, insomnia, anxiety disorders, and other conditions / J.R. Bostwick, M. I. Casher, S. Yasugi // Current Psychiatry. – 2012. - Vol.11, №. 4. – P.54.

107. Bouayed, J. Evidence that hydrogen peroxide, a component of oxidative stress, induces high-anxiety-related behaviour in mice / J. Bouayed, R. Soulimani // Behavioural brain research. – 2019. - Vol.359. – P. 292-297.

108. Boutard, N. Pyrrolo [3, 2-e][1, 4] diazepin-2-one synthesis: a head-to-head comparison of soluble versus insoluble supports / N. Boutard, J. Dufour-Gallant, P. Deaudelin //The Journal of organic chemistry. – 2011. - Vol.76. – №. 11. – P. 4533-4545.

109. Brito, A. F. A new piperazine derivative: 1-(4-(3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl) piperazin-1-yl)-2-methoxyethan-1-one with antioxidant and central activity / A.F. Brito, P.C. Braga, L.K. Moreira//Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. – 2018. - Vol.391. – №. 3. – P. 255-269.

110. Burchinskii, S. G. Бензодиазепины в фармакотерапии тревожных состояний / S.G. Burchinskii//The Journal of Neuroscience. – 2018. - Vol.6. – №. 1. – P. 46-54.

111. Calcaterra, N. E. Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium) / N.E. Calcaterra, J.C.Barrow //ACS chemical neuroscience. – 2014. - Vol.5. – №. 4. – P. 253-260.

112. Cannon, D. M. Gender-specific abnormalities in the serotonin transporter system in panic disorder / D.M. Cannon, J.M. Klaver, S.A. Klug [et al.] //International Journal of Neuropsychopharmacology. – 2013. - Vol. 16. – №. 4. – P. 733-743.

113. Casseb, G. A. S. Potential Role of Vitamin D for the Management of Depression and Anxiety G.A.S. Casseb, M.P. Kaster, A.L.S. Rodrigues//CNS drugs. – 2019. – P. 1-19.

114. Charney, D. S. Serotonin function in anxiety / D.S. Charney, S.W. Woods, W.K. Goodman, G.R. Heninger //Psychopharmacology. – 1987. - Vol. 92. – №. 1. – P. 14-24.

115. Cheng, T. Valium without dependence? Individual GABAA receptor subtype contribution toward benzodiazepine addiction, tolerance, and therapeutic effects / T. Cheng, D.M. Wallace, B. Ponteri, M. Tuli //Neuropsychiatric disease and treatment. – 2018. - Vol. 14. – P. 1351.

116. Chuang, S. H. Genetic and molecular regulation of extrasynaptic GABA-A receptors in the brain: therapeutic insights for epilepsy / S.H. Chuang, D.S. Reddy//Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2018. - Vol. 364. – №. 2. – P. 180-197.

117. Çiçek, S. S. Structure-dependent activity of natural GABA (A) receptor modulators / S.S. Çiçek //Molecules. – 2018. - Vol. 23. – №. 7. – P. 1512.

118. Coplan, J. D. Elevated cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid in macaques following early life stress and inverse association with hippocampal volume: preliminary implications for serotonin-related function in mood and anxiety disorders / J. D. Coplan, S.L. Fulton, W. Reiner [et al]/Frontiers in behavioral neuroscience. – 2014. - Vol. 8. – P. 440.

119. Correa, M. Is there a major role for adenosine A2A receptors in anxiety / M. Correa, L.Font //Front Biosci. – 2008. - Vol. 13. – P. 4058-4070.

120. Cryan, J. F.The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice / J.F.Cryan, C. Mombereau, A. Vassout //Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2005. - Vol. 29. – №. 4-5. – P. 571-625.

121. Cunha, C.GABAC receptors in the lateral amygdala: a possible novel target for the treatment of fear and anxiety disorders?/C. Cunha, M. H. Monfils, J. LeDoux//Frontiers in behavioral neuroscience. – 2010. - Vol. 4. – P. 6.

122. Da Silva, T. In vivo imaging of translocator protein in long-term cannabis users / T. Da Silva, S. Hafizi, J.J. Watts//JAMA psychiatry. – 2019.

123. D'Amour, F. E. et al. A method for determining loss of pain sensation / F.E. D'amour, F. E. D.L. Smith //J Pharmacol Exp Ther. – 1941. - Vol. 72. – №. 1. – P. 74-9.

124. Dhiman, P. Quercetin and Related Chromenone Derivatives as Monoamine Oxidase Inhibitors: Targeting Neurological and Mental Disorders / P. Dhiman, N. Malik, E. Sobarzo-Sánchez//Molecules. – 2019. - Vol. 24. – №. 3. – P. 418.

125. Dhole, M. Comparison of anxiolytic activity of ondansetron and ursolic acid with diazepam in acute anxiety./ M.Dhole, S. Bhalerao, A. Kewlani// The Pharma Innovation Journal – 2019.- 8(4):1169-1175

126. Duarte, C. D. Privileged structures: a useful concept for the rational design of new lead drug candidates / C.D. Duarte, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga//Mini reviews in medicinal chemistry. – 2007. - Vol. 7. – №. 11. – P. 1108-1119.

127. Faye, C. Rapid anxiolytic effects of RS67333, a serotonin type 4 receptor agonist, and diazepam, a benzodiazepine, are mediated by projections from the prefrontal cortex to the dorsal raphe nucleus / C. Faye, R. Hen, B.P. Guiard//Biological Psychiatry. – 2019.

128. Finn, D. A. Genetic animal models of anxiety / D.A.Finn, M.T. Rutledge-Gorman, J.C. Crabbe//Neurogenetics. – 2003. - Vol. 4. – №. 3. – P. 109-135.

129. Gandhi, J. Bilastine: A novel antihistamine / J. Gandhi, K. Godse, G. Godse //Indian Journal of Drugs in Dermatology. – 2018. - Vol. 4. – №. 1. – P. 3.

130. Garvey, M. J. The association of urinary 5-hydroxyindoleacetic acid and vanillylmandelic acid in patients with generalized anxiety / M.J. Garvey, Jr. R. Noyes, C. Woodman, C. Laukes//Neuropsychobiology. – 1995. - Vol. 31. – №. 1. – P. 6-9.

131. Gautam, S. Clinical practice guidelines for the management of generalised anxiety disorder (GAD) and panic disorder (PD) / S. Gautam, A. Jain, M. Gautam [et al.]//Indian journal of psychiatry. – 2017. - Vol. 59. – №. Suppl 1. – P. S67.

132. Gozzi, A. Differential effect of orexin-1 and CRF-1 antagonism on stress circuits: a fMRI study in the rat with the pharmacological stressor Yohimbine / A. Gozzi, S. Lepore, E. Vicentini, E. Merlo-Pich [et al.]//Neuropsychopharmacology. – 2013. - Vol. 38. – №. 11. – P. 2120.

133. Gour, J. Facile synthesis of 1, 2, 3-triazole-fused indolo-and pyrrolo [1, 4] diazepines, DNA-binding and evaluation of their anticancer activity / J. Gour, S. Gatadi, V. Pooladanda [et al.]//Bioorganic chemistry. – 2019. - Vol. 93. – P. 103306.

134. Grechko, O. Y. Opioid κ receptors as a molecular target for the creation of a new generation of analgesic drugs / O.Y. Grechko, A.A. Spasov, D.M. Shtareva //Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2016. - Vol. 50. – №. 1. – P. 1-9.

135. Guerrini, G. Identification of a New Pyrazolo [1, 5-a] quinazoline Ligand Highly Affine to γ-Aminobutyric Type A (GABAA) Receptor Subtype with Anxiolytic-Like and Antihyperalgesic Activity / G. Guerrini, G. Ciciani, L. Crocetti //Journal of medicinal chemistry. – 2017. - Vol. 60. – №. 23. – P. 9691-9702.

136. Hansen, M. V. Melatonin for pre- and postoperative anxiety in adults /M.V.Hansen, N.L.Halladin, J. Rosenberg [et al.]//Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2015. – №. 4.

137. Hardeland, R. Melatonin and inflammation—Story of a double- edged blade / R. Hardeland//Journal of pineal research. – 2018. - Vol. 65. – №. 4. – P. e12525.

138. Harvey, B. H. Metabotropic and ionotropic glutamate receptors as neurobiological targets in anxiety and stress-related disorders: focus on pharmacology and preclinical translational models / B.H. Harvey, M. Shahid//Pharmacology Biochemistry and Behavior. – 2012. - Vol. 100. – №. 4. – P. 775-800.

139. Hemming K. The Synthesis and Chemistry of Azolobenzodiazepines/ K. Hemming//Advances in Heterocyclic Chemistry. – Academic Press, 2017. - Vol. 123. – P. 63-103.

140. Jakubczyk D. Privileged scaffolds in medicinal chemistry: design, synthesis, evaluation. / D. Jakubczyk, R. Pfau, A. Encinas [et al.]//– Royal Society of Chemistry, 2015.

141. Jastrzębska-Więsek, M. Activity of serotonin 5-HT1A receptor biased agonists in rat: anxiolytic and antidepressant-like properties / M. Jastrzębska-Więsek, A. Partyka, J. Rychtyk [et al.] //ACS chemical neuroscience. – 2017. - Vol. 9. – №. 5. – P. 1040-1050.

142. Ji, L. L. Sigma-1 receptor activation ameliorates anxiety-like behavior through NR2A-CREB-BDNF signaling pathway in a rat model submitted to single-prolonged stress /L.L. Ji, J.B. Peng,, C.H. Fu [et al.] //Molecular medicine reports. – 2017. - Vol. 16. – №. 4. – P. 4987-4993.

143. Just, S. Treatment with HC-070, a potent inhibitor of TRPC4 and TRPC5, leads to anxiolytic and antidepressant effects in mice / S. Just, B.L. Chenard, A. Ceci [et al.]//PloS one. – 2018. - Vol. 13. – №. 1. – P. e0191225.

144. Jürgenson, M. Effects of the drug combination memantine and melatonin on impaired memory and brain neuronal deficits in an amyloid- predominant mouse model of Alzheimer's disease / M. Jürgenson, T. Zharkovskaja, A. Noortoots [et al.]//Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2019. - Vol. 71. – №. 11. – P. 1695-1705.

145. Kaczor, A. A. In vitro, molecular modeling and behavioral studies of 3-{[4-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridin-1-yl] methyl}-1, 2-dihydroquinolin-2-one (D2AAK1) as a potential antipsychotic / A.A. Kaczor, K.M. Targowska-Duda, B. Budzyńska [et al.]//Neurochemistry international. – 2016. - Vol. 96. – P. 84-99.

146. Kalinichev, M. The drug candidate, ADX71441, is a novel, potent and selective positive allosteric modulator of the GABAB receptor with a potential for treatment of anxiety, pain and spasticity / M. Kalinichev, F. Girard, H. Haddouk [et al.]//Neuropharmacology. – 2017. - Vol. 114. – P. 34-47.

147. Kalinina, T. S. Anxiolytic effects of diazepam and afobazole on the anxiety response evoked by GABA (a) receptor blockade in wistar rats and inbred mice of balb/c and c57bi/6 strains / T.S. Kalinina, A.A. Shimshirt, A.V. Volkova [et al.] //Eksperimental'naia i klinicheskaia farmakologiia. – 2016. - Vol. 79. – №. 10. – P. 3-7.

148. Kalitin, K. Y. GABAergic Mechanism of Anticonvulsive Effect of Chemical Agent RU-1205 / K.Y. Kalitin, O.Y. Grechko, A.A. Spasov [et al.]//Bulletin of experimental biology and medicine. – 2018. - Vol. 164. – №. 5. – P. 629-635.

149. Kitchen, I. Assessment of the hot-plate antinociceptive test in mice A new method for the statistical treatment of graded data /I. Kitchen, M. Crowder //Journal of pharmacological methods. – 1985. - Vol. 13. – №. 1. – P. 1-7.

150. Klein S. M. Noninvasive in vivo assessment of muscle impairment in the mdx mouse model– a comparison of two common wire hanging methods with two different results / S.M. Klein, J. Vykoukal, P. Lechler [et al.]//Journal of neuroscience methods. – 2012. - Vol. 203. – №. 2. – P. 292-297.

151. Kline IV, R. H. Catechol-O-methyltransferase inhibition alters pain and anxiety-related volitional behaviors through activation of β-adrenergic receptors in the rat / R.H. Kline, F.G. Exposto, S.C. O'Buckley [et al.]//Neuroscience. – 2015. - Vol. 290. – P. 561-569.

152. Knoll, J. Synthetic enhancer compounds, besides acting on biogenic amine system, influence the glutamate transmission and stress response / J. Knoll, D. Zelena, J. Timar [et al.]//Behavioural brain research. – 2020. - Vol. 378. – P. 112290.

153. Kormos, V. Role of neuropeptides in anxiety, stress, and depression: from animals to humans / V. Kormos, B. Gaszner //Neuropeptides. – 2013. - Vol. 47. – №. 6. – P. 401-419.

154. Kosolapov, V. A. Condensed Benzimidazoles Are a Novel Scaffold for Antioxidant Agents' Search and Development / V.A. Kosolapov, A.A. Spasov, V.A. Anisimova [et al.]//Antioxidants. – IntechOpen, 2019.

155. Kurczab, R. Computer-aided studies for novel arylhydantoin 1, 3, 5-triazine derivatives as 5-HT6 serotonin receptor ligands with antidepressive-like, anxiolytic and antiobesity action in vivo / R. Kurczab, W. Ali, D. Łażewska [et al.] //Molecules. – 2018. - Vol. 23. – №. 10. – P. 2529.

156. Latacz, G. MF-8, a novel promising arylpiperazine-hydantoin based 5-HT7 receptor antagonist: In vitro drug-likeness studies and in vivo pharmacological evaluation /G. Latacz, A. Lubelska, M. Jastrzębska-Więsek [et al.] //Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2018. - Vol. 28. – №. 5. – P. 878-883.

157. Letizia Trincavelli, M. The GABAA-BZR complex as target for the development of anxiolytic drugs / M. Letizia Trincavelli, E. Da Pozzo, S. Daniele, C. Martini //Current topics in medicinal chemistry. – 2012. - Vol. 12. – №. 4. – P. 254-269.

158. Li, X. Antidepressant-like effects of translocator protein (18 kDa) ligand ZBD-2 in mouse models of postpartum depression / X.B. Li, A. Liu, L.Yang [et al.],//Molecular brain. – 2018. - Vol. 11. – №. 1. – P. 12.

159. Liu, L. Antiviral effect of 7-(4-benzimidazole-butoxy)-coumarin on rhabdoviral clearance via Nrf2 activation regulated by PKCα/β phosphorylation / L. Liu, Y.F. Shen, Y. Hu, J.F. Lu//Fish & shellfish immunology. – 2018. - Vol. 83. – P. 386-396.

160. Luan, L.B. Synthesis of new tricyclic 5, 6-dihydro-4H-benzo [b][1, 2, 4] triazolo [1, 5-d][1, 4] diazepine derivatives by [3++ 2]-cycloaddition/rearrangement reactions. / L. B. Luan, Z.J.Song, Z.M. Li [et al.]//Beilstein journal of organic chemistry, 2018, 14(1), 1826-1833.

161. Luo, H. Suramin is a novel competitive antagonist selective to α1β2γ2 GABAA over ρ1 GABAC receptors / H. Luo, K.Wood, F.D.Shi, F.Gao, Y. Chang//Neuropharmacology. – 2018. - Vol. 141. – P. 148-157.

162. Malikowska-Racia, N. Behavioral effects of buspirone in a mouse model of posttraumatic stress disorder / N. Malikowska-Racia, P. Popik, K. Sałat //Behavioural brain research. – 2019. – P. 112380.

163. Manouchehri, N. Comparison of the anxiolytic and hypnotic effects of Origanum majorana essential oil and alprazolam in male mice / N. Manouchehri, S. Abbasi-Maleki, Z. Mousavi//Herbal Medicines Journal. – 2019. - Vol. 1. – №. 1.

164. Mark, M. D. RGS2 drives male aggression in mice via the serotonergic system / M.D. Mark, P. Wollenweber, A. Gesk [et al.] //Communications biology. – 2019. - Vol. 2. – №. 1. – P. 1-17.

165. Maron, E. Reduced brain serotonin transporter binding in patients with panic disorder / E. Maron, J.T. Kuikka, J.Shlik [et al.] //Psychiatry Research: Neuroimaging. – 2004. - Vol. 132. – №. 2. – P. 173-181.

166. Maron, E. Serotonin function in panic disorder: important, but why? / E.Maron, J. Shlik //Neuropsychopharmacology. – 2006. - Vol. 31. – №. 1. – P. 1.

167. Martin, C. B. P. 5-HT2C receptor desensitization moderates anxiety in 5-HTT deficient mice: from behavioral to cellular evidence / C.B. Martin, V.S. Martin, J.M. Trigo [et al.]//International Journal of Neuropsychopharmacology. – 2015. - Vol. 18. – №. 3. – P. pyu056.

168. Mazimba, O. 1, 5-Benzodiazepines: A Review Update / O. Mazimba, T.C. Molefe //International Journal of Chemical Studies. – 2015. - Vol. 3. – №. 3. – P. 46-52.

169. Matheson, E. Insomnia: Pharmacologic Therapy /E. Matheson, B.L. Hainer//American family physician. – 2017. - Vol. 96. – №. 1. – P. 29-35.

170. McTague, A. Drug management for acute tonic- clonic convulsions including convulsive status epilepticus in children /A. McTague, T. Martland, R. Appleton//Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2018. – №. 1.

171. Miller, P. S. Structural basis for GABA A receptor potentiation by neurosteroids / P.S. Miller, S.Scott, S. Masiulis [et al.]//Nature structural & molecular biology. – 2017. - Vol. 24. – №. 11. – P. 986.

172. Montes, G. The hypnotic, anxiolytic, and antinociceptive profile of a novel µ-opioid agonist / G.C. Montes, B.N.M. Da Silva, B. Rezende //Molecules. – 2017. - Vol. 22. – №. 5. – P. 800.

173. Murrough, J. W. Emerging drugs for the treatment of anxiety / J.W. Murrough, S. Yaqubi, S.Sayed , D.S. Charney//Expert opinion on emerging drugs. – 2015. - Vol. 20. – №. 3. – P. 393-406.

174. Nakamura, K. Peripheral-type benzodiazepine receptors on platelets are correlated with the degrees of anxiety in normal human subjects / K. Nakamura, I. Fukunishi, Y. Nakamoto [et al.]//Psychopharmacology. – 2002. - Vol. 162. – №. 3. – P. 301-303.

175. Neumeister, A. Reduced serotonin type 1A receptor binding in panic disorder / A. Neumeister, E. Bain, A.C.Nugent [et al.]//Journal of Neuroscience. – 2004. - Vol. 24. – №. 3. – P. 589-591.

176. Ngo, D. H. An Updated Review on Pharmaceutical Properties of Gamma-Aminobutyric Acid / D.H. Ngo, T.S. Vo//Molecules. – 2019. - Vol. 24. – №. 15. – P. 2678.

177. Nguema Ongone, T. Synthesis of Surfactants Derived from 2-Mercaptobenzimidazole and Study of Their Acute Toxicity and Analgesic and Psychotropic Activities / T. Nguema Ongone, L. El Ouasif, M. El Ghoul [et al.]//Biochemistry research international. – 2019. - Vol. 2019.

178. Nozaki, K. Antidepressant effect of the translocator protein antagonist ONO-2952 on mouse behaviors under chronic social defeat stress /K. Nozaki, H. Ito, M. Ohgidani [et al.]//Neuropharmacology. – 2020. - Vol. 162. – P. 107835.

179. Nuss, P. Anxiety disorders and GABA neurotransmission: a disturbance of modulation [text] / P. Nuss // Neuropsychiatric Disease and Treatment. – 2015. – 17(11). – P.165-75.

180. Partyka, A. ADN-1184, a monoaminergic ligand with 5-HT 6/7 receptor antagonist action, exhibits activity in animal models of anxiety / A. Partyka, A. Wasik, M. Jastrzębska-Więsek [et al.]//Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. – 2016. - Vol. 389. – №. 6. – P. 593-602.

181. Pastore, V. N-propyl-2, 2-diphenyl-2-hydroxyacetamide, a novel α-hydroxyamide with anticonvulsant, anxiolytic and antidepressant-like effects that inhibits voltage-gated sodium channels / V. Pastore, C. Wasowski, P. Martin [et al.]//European journal of pharmacology. – 2018. - Vol. 819. – P. 270-280.

182. Paudel, P. In Vitro and in Silico Human Monoamine Oxidase Inhibitory Potential of Anthraquinones, Naphthopyrones, and Naphthalenic Lactones from Cassia obtusifolia Linn Seeds / P. Paudel, S.H. Seong, S. Shrestha//ACS omega. – 2019. - Vol. 4. – №. 14. – P. 16139-16152.

183. Paudel, P. Novel Diels–Alder Type Adducts from Morus alba Root Bark Targeting Human Monoamine Oxidase and Dopaminergic Receptors for the Management of Neurodegenerative Diseases /P. Paudel, S.E. Park, S.H. Seong [et al.]//International Journal of Molecular Sciences. – 2019. - Vol. 20. – №. 24. – P. 6232.

184. Peroutka, S. J. [3H] Mianserin: differential labeling of serotonin and histamine receptors in rat brain / S.J. Peroutka, S.H. Snyder //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1981. - Vol. 216. – №. 1. – P. 142-148.

185. Podkowa, A. Anticonvulsant activity of a novel gamma-aminobutyric acid transporter subtype 1 inhibitor in mice / A. Podkowa, K. Sałat, N. Malikowska [et al.] //European Neuropsychopharmacology. – 2016. - Vol. 2. – №. 26. – P. S286.

186. Ponzoni, L. Ritanserin-sensitive receptors modulate the prosocial and the anxiolytic effect of MDMA derivatives, DOB and PMA, in zebrafish/ L. Ponzoni, M. Sala, D. Braida //Behavioural brain research. – 2016. - Vol. 314. – P. 181-189.

187. Porcu, A. In vitro and in vivo pharmacological characterization of SSD114, a novel GABAB positive allosteric modulator / A. Porcu, C. Lobina, D. Giunta [et al.]//European journal of pharmacology. – 2016. - Vol. 791. – P. 115-123.

188. Porsolt, R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M. Le Pichon, M.L. Jalfre//Nature. – 1977. - Vol. 266. – №. 5604. – P. 730.

189. Porsolt, R. D.Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, G. Anton, N. Blavet, M. Jalfre //European journal of pharmacology. – 1978. - Vol. 47. – №. 4. – P. 379-391.

190. Pranzetelli M.R. Brainstem serotonergic hyperinnervation modifies behavioral supersensitivity to 5-hydroxytryptophan in the rat / M.R. Pranzatelli, Y.Y. Huang, A.M. Dollison, M. Stanley // Brain. Res. Dev. Brain Res. – 1989. – Vol.50(1). – P.89-99.

191. Qi, J. Enhanced susceptibility to stress and seizures in GAD65 deficient mice / J.Qi, M. Kim, R. Sanchez//PloS one. – 2018. - Vol. 13. – №. 1. – P. e0191794.

192. Ralvenius, W. T. Analgesia and unwanted benzodiazepine effects in point-mutated mice expressing only one benzodiazepine-sensitive GABA A receptor subtype / W.T. Ralvenius, D. Benke, M.A. Acuna [et al.] //Nature communications. – 2015. - Vol. 6. – P. 6803.

193. Rashid, M. A. 1, 4-Diazepines: A Review on Synthesis, Reactions and Biological Significance / M.A. Rashid, A. Ashraf, S.S. Rehman [et al.]//Current Organic Synthesis. – 2019. - Vol. 16. – №. 5. – P. 709-729.

194. Reis, A. S. 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline, a novel multitarget compound with anxiolytic activity: Contribution of the glutamatergic system / A.S. Reis, M. Pinz, L.F. B. Duarte //Journal of psychiatric research. – 2017. - Vol. 84. – P. 191-199.

195. Rice, O. V. Selective dopamine D3 receptor antagonism significantly attenuates stress- induced immobility in a rat model of post- traumatic stress disorder /O.V. Rice, Jr.C.R. Ashby, C. Dixon [et al.]//Synapse. – 2018. - Vol. 72. – №. 8. – P. e22035.

196. Rivilli, M. J. L. Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazolo [4, 3-c] quinolinones as high affinity GABAA-R ligands and potential anxiolytics / M. J. L. Rivilli, A. V. Turina, E. A. Bignante [et al.] //Bioorganic & medicinal chemistry. – 2018. - Vol. 26. – №. 14. – P. 3967-3974.

197. Roux, S. Primary observation (Irwin) test in rodents for assessing acute toxicity of a test agent and its effects on behavior and physiological function / S. Roux, E.Sablé, R.D. Porsolt//Current protocols in pharmacology. – 2004. - Vol. 27. – №. 1. – P. 10.10. 1-10.10. 23.

198. Rutter, L. A. Emotion sensitivity and self- reported symptoms of generalized anxiety disorder across the lifespan: A population- based sample approach / L. A. Rutter, L. Scheuer, I. V. Vahia [et al.]//Brain and behavior. – 2019. – P. e01282.

199. Sake, F. T. N.Benzodiazepine usage and patient preference for alternative therapies: A descriptive study / F.T.N. Sake, K. Wong, D.J. Bartlett, B. Saini //Health science reports. – 2019. - Vol. 2. – №. 5. – P. e116.

200. Sałat, K. Novel, highly potent and in vivo active inhibitor of GABA transporter subtype 1 with anticonvulsant, anxiolytic, antidepressant and antinociceptive properties / K. Sałat, A. Podkowa, N. Malikowska [et al.]//Neuropharmacology. – 2017. - Vol. 113. – P. 331-342.

201. Santos, P. Anxiolytic properties of compounds that counteract oxidative stress, neuroinflammation, and glutamatergic dysfunction: a review / P. Santos, A.P. Herrmann, E. Elisabetsky, A. Piato //Brazilian Journal of Psychiatry. – 2019. - Vol. 41. – №. 2. – P. 168-178.

202. Sathishkumar, S. Synthesis, characterization and analgesic activity of novel tetrazolo and triazolodiazepine compounds./ S.Sathishkumar, H.P.Kavitha//Indian journal of chemistry – section B (IJC-B Vol.58B) – 2019.

203. Sathishkumar, S. Synthesis, characterization and anti-inflammatory evaluation of novel substituted tetrazolodiazepine derivatives. / S.Sathishkumar, H.P.Kavitha//Indian journal of chemistry – section B (IJC-B Vol.56B) – 2017.

204. Sethi, P. Synthesis and PASS-assisted evaluation of coumarin–benzimidazole derivatives as potential anti-inflammatory and anthelmintic agents / P. Sethi, Y. Bansal, G. Bansal //Medicinal chemistry research. – 2018. - Vol. 27. – №. 1. – P. 61-71.

205. Shafie, A. Novel fused 1, 2, 3-triazolo-benzodiazepine derivatives as potent anticonvulsant agents: design, synthesis, in vivo, and in silico evaluations / A. Shafie, M. Mohammadi-Khanaposhtani, M. Asadi [et al.]//Molecular diversity. – 2019. – P. 1-11.

206. Shang, C. Rapid anti-PTSD-like activity of the TSPO agonist YL-IPA08: Emphasis on brain GABA, neurosteroids and HPA axis function / C. Shang, Y.Guo, J. Q.Yao [et al.]//Behavioural brain research. – 2019. – P. 112320.

207. Shioda, N. Dopamine D2L Receptor Deficiency Causes Stress Vulnerability through 5-HT1A Receptor Dysfunction in Serotonergic Neurons / N. Shioda, Y. Imai, Y. Yabuki [et al.]//Journal of Neuroscience. – 2019. - Vol. 39. – №. 38. – P. 7551-7563.

208. Smith, S. G. Privileged diazepine compounds and their emergence as bromodomain inhibitors / S.G. Smith, R. Sanchez, M.M. Zhou //Chemistry & biology. – 2014. - Vol. 21. – №. 5. – P. 573-583.

209. Smoller, J. W. The genetics of stress-related disorders: PTSD, depression, and anxiety disorders / J.W.Smoller//Neuropsychopharmacology. – 2016. - Vol. 41. – №. 1. – P. 297.

210. Solomon, V. R. et al. GABA allosteric modulators: An overview of recent developments in non-benzodiazepine modulators / V. R. Solomon, V. J. Tallapragada, M. Chebib//European journal of medicinal chemistry. – 2019.

211. Song, D. Role of dopamine D3 receptor in alleviating behavioural deficits in animal models of post-traumatic stress disorder /D. Song, Y. Ge, Z. Chen [et al.] //Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2018. - Vol. 84. – P. 190-200.

212. Spasov, A. A. Novel Approaches to the Development of Antimigraine Drugs: A Focus on 5-HT 2A Receptor Antagonists / A.A. Spasov, D.S. Yakovlev, A.A. Brigadirova [et al.]//Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2019. - Vol. 45. – №. 2. – P. 76-88.

213. Steru, L. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice / L. Steru, R. Chermat, B. Thierry, P.Simon//Psychopharmacology. – 1985. - Vol. 85. – №. 3. – P. 367-370.

214. Ströhle, A. The diagnosis and treatment of anxiety disorders / A. Ströhle, J. Gensichen, K Domschke//Deutsches Ärzteblatt International. – 2018. - Vol. 115. – №. 37. – P. 611.

215. Sun F. et al. Adiponectin modulates ventral tegmental area dopamine neuron activity and anxiety-related behavior through AdipoR1 //Molecular psychiatry. – 2019. - Vol. 24. – №. 1. – P. 126-144.

216. Zhang, L. M. Anxiolytic-like effects of YL-IPA08, a potent ligand for the translocator protein (18 kDa) in animal models of post-traumatic stress disorder / L. M. Zhang, Z.K. Qiu, N. Zhao [et al.]//International Journal of Neuropsychopharmacology. – 2014. - Vol. 17. – №. 10. – P. 1659-1669.

217. Zhu, S. Structure of a human synaptic GABA A receptor / S. Zhu, C.M. Noviello, J.Teng [et al.]//Nature. – 2018. - Vol. 559. – №. 7712. – P. 67.

218. Zhu, Y. Identification and optimization of 2- aminobenzimidazole derivatives as novel inhibitors of TRPC 4 and TRPC 5 channels / Y. Zhu, Y. Lu, C. Qu [et al.]//British journal of pharmacology. – 2015. - Vol. 172. – №. 14. – P. 3495-3509.

219. Ziegler, C. Epigenetic signature of MAOA and MAOB genes in mental disorders / C. Ziegler, K. Domschke//Journal of Neural Transmission. – 2018. - Vol. 125. – №. 11. – P. 1581-1588.

220. Żmudzka, E.Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies / E. Żmudzka, K. Sałaciak, J. Sapa, K. Pytka//Life sciences. – 2018. - Vol. 210. – P. 106-124.

221. Tantray, M. A.Synthesis of benzimidazole-linked-1, 3, 4-oxadiazole carboxamides as GSK-3β inhibitors with in vivo antidepressant activity / M.A.Tantray, I. Khan, H. Hamid [et al.]//Bioorganic chemistry. – 2018. - Vol. 77. – P. 393-401.

222. Terzioğlu, B. Increased noradrenaline levels in the rostral pons can be reversed by M1 antagonist in a rat model of post-traumatic stress disorder / B.Terzioğlu, M. Kaleli, B. Aydın [et al.]//Neurochemical research. – 2013. - Vol. 38. – №. 8. – P. 1726-1733.

223. Tillman, L. Crossing the Chloride Channel: The Current and Potential Therapeutic Value of the Neuronal K / L.Tillman, J. Zhang //BioMed research international. – 2019. - Vol. 2019.

224. Tripathi, A. C. Privileged scaffolds as MAO inhibitors: Retrospect and prospects / A. C. Tripathi, S.Upadhyay, S.Paliwal, S.K.Saraf //European journal of medicinal chemistry. – 2018. - Vol. 145. – P. 445-497.

225. Tu, G.Dopamine D1 and D2 Receptors Differentially Regulate Rac1 and Cdc42 Signaling in the Nucleus Accumbens to Modulate Behavioral and Structural Plasticity After Repeated Methamphetamine Treatment / G. Tu, L.Ying, L.Ye [et al.]//Biological psychiatry. – 2019.

226. Turan, N. Investigating the Antidepressant-like Effects of some Benzimidazole-piperidine Derivatives by In-Vivo Experimental Methods / N. Turan, U.D. Özkay, N.O.Can, O.D.Can//Letters in Drug Design & Discovery. – 2019. - Vol. 16. – №. 3. – P. 341-346.

227. Upadhyay, S. 2-pyrazoline derivatives in neuropharmacology: Synthesis, ADME prediction, molecular docking and in vivo biological evaluation / S.Upadhyay, A.C. Tripathi, S. Paliwal, S.K. Saraf//EXCLI journal. – 2017. - Vol. 16. – P. 628.

228. Wang, D. Anxiolytic-like effects of translocator protein (TSPO) ligand ZBD-2 in an animal model of chronic pain / D.S.Wang, Z.Tian, Y.Y.Guo [et al.]//Molecular pain. – 2015. - Vol. 11. – №. 1. – P. 16.

229. Wang, Q.The anxiolytic-and antidepressant-like effects of ATPM-ET, a novel κ agonist and μ partial agonist, in mice / Q.Wang, Y. Long, A. Hang [et al.] //Psychopharmacology. – 2016. - Vol. 233. – №. 12. – P. 2411-2418.

230. Wang, Y. Choline Supplementation Ameliorates Behavioural Deficits and Alzheimer's Disease- Like Pathology in Transgenic APP/PS1 Mice / Y.Wang, X. Guan, X. Chen [et al.] //Molecular nutrition & food research. – 2019.

231. Weinberg-Wolf, H. The effects of 5-hydroxytryptophan on attention and central serotonin neurochemistry in the rhesus macaque / H. Weinberg-Wolf, N.A. Fagan, G.M. Anderson [et al.] //Neuropsychopharmacology. – 2018. - Vol. 43. – №. 7. – P. 1589.

232. WHO D. Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates //World Health Organization, Geneva. – 2017.

233. Wickramasekara, R. N. Alpha2-adrenergic dysregulation in congenic DxH recombinant inbred mice selectively bred for a high fear-sensitized (H-FSS) startle response. / R. N.,Wickramasekara,C. Bockman, J. Hanke [et al.] // Pharmacology Biochemistry and Behavior,2020, 188, 172835.

234. Vogel, J. R. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents / J.R.Vogel, B. Beer, D.E. Clody//Psychopharmacologia. – 1971. - Vol. 21. – №. 1. – P. 1-7.

235. Voronin, M. Contribution of Sigma- 1 receptor to cytoprotective effect of afobazole / M.V. Voronin., I.A. Kadnikov//Pharmacology research & perspectives. – 2016. - Vol. 4. – №. 6. – P. e00273.

236. Yoshikawa, T. Histamine N-Methyltransferase in the Brain / T. Yoshikawa, T. Nakamura, K. Yanai//International journal of molecular sciences. – 2019. - Vol. 20. – №. 3. – P. 737.

237. Youssef, E. Effect of the mGluR5-NAM basimglurant on behavior in adolescents and adults with fragile X syndrome in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial: FragXis phase 2 results / E.A.Youssef, E. Berry-Kravis, C. Czech [et al.]//Neuropsychopharmacology. – 2018. - Vol. 43. – №. 3. – P. 503.