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

На правах рукописи

Ковалев Николай Сергеевич

ПСИХОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук,
профессор
Иван Николаевич Тюренков

Научный консультант:
кандидат медицинских наук,
Дмитрий Александрович Бакулин

ВОЛГОГРАД, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ..... 7

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ..... 16

1.1 Актуальность проблемы психических расстройств 16

1.2. Проблема депрессивных расстройств в России и в мире 17

1.3 Социальные факторы депрессии 21

1.4 Современные средства лечения тревожных и депрессивных расстройств 23

1.5 Психотропная активность производных адамантана 29

1.6 Психотропная активность производных ГАМК 37

1.7 Заключение 41

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 42

2.1. Экспериментальные животные 42

2.2. Исследуемые соединения и препараты сравнения 44

2.3. Дизайн исследования 47

2.4. Методы исследования психотропного действия адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона 48

2.4.1 Открытое поле 48

2.4.2 Приподнятый крестообразный лабиринт 49

2.4.3 Условная реакция пассивного избегания 51

2.4.4 Тест экстраполяционного избавления 53

2.4.5 Тест распознования нового объекта 54

2.4.6 Подвешивание мышей за хвост 54

2.4.7 Принудительное плаванье по Porsolt 55

2.4.8 Тест конфликтной ситуации вариант Vogel 56

2.4.9 Оценка социального взаимодействия 57

2.4.10 Трехкамерный социальный тест 58

2.4.11 Адгезивный тест 59

2.4.12 Rotarod тест 59

2.5. Оценка терапевтического эффекта адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на фоне социальной депрессии 59

2.6 Оценка терапевтического эффекта адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях экспериментальной ишемии головного мозга 65

2.6.1 Оценка терапевтического эффекта адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях экспериментальной ишемии головного мозга 65

2.6.2 Оценка терапевтического влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях ХНМК 67

2.7. Изучение возможного взаимодействия с нейромедиаторными системами головного мозга 71

2.8 Оценка острой токсичности адамантновых производных ГАМК и альфа-пирролидона 75

2.8 Статистическая обработка результатов исследования 76

ГЛАВА 3. СКРИНИНГ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СРЕДИ АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА 77

3.1 Изучение психотропной активности адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в различных дозах 77

3.1.1 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Открытое поле..... 77

3.1.2 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт 81

3.1.3 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на формирование, сохранение и воспроизведение памятного следа в тестах УРПИ и ТЭИ..... 84

3.1.4 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тестах принудительное плавание по Porsolt и подвешивание мышей за хвост 88

3.1.5 Заключение 91

3.2 Оценка специфической активности адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в наиболее активной дозе в сравнении с референтными препаратами сравнения 91

3.2.1 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Открытое поле..... 92

3.2.2 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт 93

3.2.3 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте конфликтной ситуации вариант Vogel 95

3.2.4 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тестах принудительное плавание по Porsolt и подвешивание мышей за хвост 96

3.2.5 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на сохранность и вопроизведение памятного следа в тестах УРПИ и ТЭИ..... 97

3.2.6 Заключение 99

3.3 Изучение острой токсичности наиболее активных адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона..... 99

3.3.1 Заключение 100

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ АНТИДЕПРЕССАНТНОЙ АКТИВНОСТИ АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА НА МОДЕЛИ СОЦИАЛЬНОЙ ДЕПРЕССИИ..... 102

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРЕМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И НА ФОНЕ ХНМК..... 111

5.1 Оценка терапевтического влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях экспериментальной ишемии головного мозга 111

5.2 Оценка терапевтического влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях ХНМК 113

5.3 Заключение 119

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА С НЕКОТОРЫМИ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫМИ СИСТЕМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА 121

6.1 Изучение адамантановых производных ГАМК 121

6.1.1 Исследование взаимодействия адамантанового производного ГАМК с нейромедиаторными системами головного мозга 121

6.1.2 Исследование молекулярного докинга тестируемых соединений122

6.2 Изучение активности адамантановых производных альфа-пирролидона 125

6.2.1 Исследование взаимодействия адамантанового производного альфа-пирролидона с нейромедиаторными системами головного мозга 125

6.2.2 Исследование молекулярного докинга тестируемых соединений127

6.3 Заключение 130

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ 131

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 141

ВЫВОДЫ 144

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 145

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 146

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 148

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

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

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

Длительное время для лечения депрессии применялись трициклические антидепрессанты (ТЦА) (амитриптилин, имипрамин и др.) (Wu Q., et al., 2020). Несмотря на высокую эффективность, они обладают существенными недостатками, основные из которых: узкий терапевтический диапазон (Khalid M. M., 2021), высокая токсичность при передозировке (Khalid M. M., 2021), тератогенный эффект и перекрестная резистентность (Gentile S., 2014), что ограничивает их применение. На данный момент наиболее популярной и назначаемой группой антидепрессантов являются представители селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС) (флуоксетин, пароксетин, циталопрам). В отличие от ТЦА, для СИОЗС значительно менее свойственны антихолинергические побочные эффекты, ортостатическая гипотензия и седация, снижен риск кардиотоксического действия при передозировке (Wang. S.M., et al.,

2018), однако препараты данной группы часто вызывают нежелательные гастроэнтерологические побочные эффекты, такие как тошнота (Guo S., Yan Y., Xi J., Fei Y. L., 2020), рвота (Guo S., et al., 2020), диспепсия (Guo S., et al., 2020) и острые абдоминальные боли (Ramic. E., et al., 2020). Частым спутником на фоне приема СИОЗС является бессонница (Guo S., et al., 2020), нарастание тревоги (Guo S., et al., 2020), отсутствие аппетита (Cartwright C., et al., 2016), повышенная утомляемость (Guo S., et al., 2020), сексуальная дисфункция (Atmaca M., 2020), агрессивность и выраженный СИОЗС индуцированный апатический синдром (Padala P. R., et al., 2020), но наиболее значимым недостатком является медленное развитие терапевтического эффекта (в течении 2-х недель) на фоне первостепенного развития побочных эффектов (Pacher P., Kecskemeti V., 2004). Более подробное изучение патогенеза депрессивных состояний способствовало появлению новых групп антидепрессантных препаратов, которые позволяют эффективнее и безопаснее корректировать депрессивные расстройства (InformedHealth., 2020).

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

Бензодиазепины являются наиболее эффективной и широко назначаемой группой анксиолитиков. Также они активно назначаются (в качестве препаратов первой линии) перед приемом СИОЗС. Несмотря на высокую эффективность, данная группа препаратов не лишена множества значительных недостатков, таких как формирование толерантности, негативное влияние на когнитивные функции,

высокий риск развития лекарственной зависимости и последующего злоупотребления (Amira G., et al 2020).

В качестве альтернативы, для лечения психических расстройств используются производные ГАМК (пикамилон, фенибут, баклофен, габапентин, прегабалин и др.) и альфа-пирролидона (фенотропил, пирацетам, прамирацетам, леветирацетам, анирацетам и др.) которым характерен широкий спектр фармакологической активности, включающий ноотропные (Parkhomenko R.I., Il'yuchenok R. Y., 1990), анксиолитические (Kupats E., 2020), седативные (Ghanavatian S., Derian A., 2021), противосудорожные (Kupats E., et al., 2020), антидепрессантные (Zvejniece L., et al., 2011) и церебропротекторные свойства (Volotova E.V., et al 2016), реализуемые посредством влияния на ГАМК-ергическую систему. Однако, выраженность данных эффектов в значительной степени зависит от способности проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) (Брестовицкая. В.М., и др., 2016; Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., 2011; Boonstra E., et al., 2015).

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

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

Утверждение темы диссертационного исследования состоялось на заседании Ученого совета ВолгГМУ (протокол №3 от 15.05.2019), в дальнейшем, в связи с полученными в ходе работы результатами была изменена на текущую на заседании Ученого совета ВолгГМУ (протокол №1 от 12.05.2021).

Степень разработанности

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

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

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

Цель исследования

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

Задачи исследования

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

Научная новизна исследования

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

Выявлено соединение ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) с выраженной антидепрессантной, ноотропной и умеренной анксиолитической активностью. Соединение ВКМ-22 по активности превосходит препарат сравнения имипрамин. Данное вещество мало токсично LD_{50} составляет

2800 мг/кг, а терапевтический индекс выше, чем у препаратов сравнения имипрамина и флуоксетина. Изучаемое соединение может позиционироваться как антидепрессант, который в отличие от референтных препаратов отличается наличием дополнительного анксиолитического и ноотропного эффекта.

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

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявленные в ходе исследования зависимости между антидепрессивной, анксиолитической и ноотропной активностью адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона и их структурой позволили расширить знания о данной группе соединений и могут служить основой для продолжения направленного поиска новых соединений с психотропными свойствами в ряду гибридных соединений адамантановых производных ГАМК. Полученные данные о наличии анксиолитической, антидепрессантной и ноотропной активности, а также низкой токсичности адамантанового производного ГАМК (ВКМ-22) свидетельствуют о целесообразности дальнейшего углубленного изучения его терапевтического потенциала с целью разработки нового лекарственного препарата для лечения тревожно-депрессивных и когнитивных расстройств.

Методология и методы исследования

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

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

Основные положения, выносимые на защиту

1. В ряду адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона выявлены соединения ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) и ТIМ-2 (1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он), проявляющие выраженную сочетанную антидепрессантную, анксиолитическую и ноотропную активность у животных без патологии, а также в условиях экспериментальной депрессии и нарушения мозгового кровообращения, что обосновывает перспективность поиска среди них новых эффективных психотропных средств.
2. Соединение ВКМ-22 проявляет комбинированное психотропное действие, включающее выраженный антидепрессантный, анксиолитический и ноотропный эффекты у экспериментальных животных в условиях депрессии и нарушения мозгового кровообращения; обладает низкой токсичностью и потенциально высокой лекарственной безопасностью, что указывает на перспективность его дальнейшего изучения с целью возможного внедрения в клиническую практику в качестве психотропного препарата.

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

Степень достоверности

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

Личный вклад автора

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

Апробация полученных результатов

Основные результаты диссертационной работы были представлены на научно-практических конференциях: 78 – открытой научно-практические

конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием (Волгоград, 2020-2021 гг.). XXIV Региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области (Волгоград, 2019 г.).

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

Структура и объем диссертации

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

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Актуальность проблемы психических расстройств

Депрессивные и тревожные расстройства остаются одним из самых распространённых психических нарушений во всем мире (Gutiérrez-Rojas L., et al 2020), только по оценке ВОЗ в 2020 году от депрессии пострадало 300 миллионов человек (World Health Organization, 2020). Депрессивное состояние значительно отличается от обыденных колебаний настроения и кратковременных эмоциональных реакций на различные раздражители (Chand S. P., Arif H., 2020).

В современной клинической практике зарегистрировано большое количество различных психических расстройств (Gaebel W., Stricker J., Kerst A., 2020), которые сопровождаются множеством симптоматических проявлений, однако общей чертой для большинства является сочетание анормальных мыслительных процессов (Spoorthy M.S., Pratapa S. K., Mahant S., 2020), эмоциональных проявлений (Rogers J., et al 2020), поведенческих реакций и отношений с окружающими людьми (Voss R. M., Das M. J., 2021). К наиболее распространённым в современном мире психическим заболеваниям относят депрессию (Wang J., et al 2017), далее в порядке уменьшения следует биполярное аффективное расстройство (Baldessarini R. I., Vázquez L. Tondo., 2020), деменция (Cao. Q., et al., 2020), шизофрения (He. H., et al., 2020) и другие вариации психоза (Liu. Q., et al., 2020).

Для ряда психических расстройств выработана эффективная стратегия профилактики, существуют действенные методы лечения и ухода, позволяющие значительно уменьшить страдания данных пациентов. Но несмотря на существующие меры борьбы, распространённость психических расстройств продолжает увеличиваться, в частности данный прирост во многом связан с ростом распространённости тревожных, депрессивных, когнитивных патологий которые могут быть ассоциированы с различными негативными процессами, происходящими в обществе (Gallagher M.W., et al., 2020). Одним из примеров

может послужить трехкратное увеличение распространённости психических расстройств на территории стран Европейского Союза, Великобритании, США, Китая и России в 2020 году в сравнении с аналогичным периодом 2019 года, которое по мнению исследователей связано с внедрением ограничений по борьбе с COVID-19, значительно изменившими образ жизни современного человека (Hoying. J., et al., 2020; Karpenko O.A., et al., 2020; Winkler P., et al., 2020).

На территории Российской Федерации на фоне потери рабочих мест и внедрении мер по ограничению социальных контактов привело к росту беспокойства среди различных слоёв населения и в сумме послужило пусковым механизмом резкого прироста психических нарушений (Hoying. J., et al., 2020; Скотникова И.Г., Егорова П. И., Дубинская Ю. Л., Жиганов Л.С., 2020, Brailovskaia J., et al., 2021), так за 2020 год наблюдалось увеличение количества обращения граждан к психологам и психотерапевтам в среднем на 30%, например в Москве количество зарегистрированных психических расстройств увеличилось на 28%, а в Санкт-Петербурге на 30% в сравнении с 2019 годом, на территории Волгоградской области в 2020 году за психологической помощью обратилось 9040 человек, что на 6% больше чем годом ранее. Всплеск роста психических заболеваний на фоне пандемии сохранил свои тенденции и в 2021 году, а основное влияние на статистику оказал рост числа депрессивных расстройств (Васильева А. В., 2020; Медведев В. Э., Доготарь О. А., 2020; Сергеева Н. М., 2020; Стаценко О. А., 2020; Шматова Ю. Е., 2020; Bueno-Notivol J., et al., 2021).

1.2. Проблема депрессивных расстройств в России и в мире

Депрессивные расстройства характеризуются большим разнообразием как по симптоматике, так и тяжести течения. Основными симптомами депрессии являются: подавленное настроение, снижение концентрации, внимания, нарушение сна, потеря аппетита, повышенная утомляемость, потеря уверенности в собственных силах и чрезмерная самокритика (Thomas McCarter., 2020). Во всем мире наблюдается тенденция к увеличению распространённости депрессивного расстройства, данные представленные ВОЗ позволяют предположить, что к 2030

году депрессия только укрепится в статусе одного из самых распространённых психических заболеваний. В 2015 году депрессия уже стала самым распространённым психическим расстройством в США и затронула каждого третьего взрослого человека из возрастной категории от 15 до 34 лет, из которых в ходе анкетирования 9,3 миллиона заявили о наличии суицидальных мыслей на фоне болезни (Hoying. J., Bernadette M. M., Hutson E., Tan A., 2020).

На территории Российской Федерации по данным ВОЗ количество людей, страдающих от депрессивного расстройства ниже, чем в США и их доля в среднем составляет 5,5% от общего числа населения (World Health Organization, 2019). Данный показатель значительно варьирует в зависимости от региона страны, а также не имеет стандартизации в зависимости от пола и возраста.

Переход Российской Федерации к рыночной экономике, проходил достаточно болезненно для страны и сопровождался серьёзными экономическими проблемами, которые также привели к кризису в области здравоохранения (Twenge J. M., 2010). Пик распространения депрессивных расстройств в России совпал с кризисной обстановкой в стране в 90-е годы, в частности 1994 году уровень суицидов среди мужчин в возрасте от 50 до 54 лет, был в 6 раз выше, чем в Соединённых Штатах Америки в аналогичный период времени (Gilbert P., 2006). В дальнейшем наблюдалось постепенное снижение уровня распространённости депрессии и суицидов среди населения, однако по данным ВОЗ за 2006 год, Россия занимала 3-е место по распространённости депрессии на Европейском континенте. Несмотря на сложности сбора статистических данных, связанных с трудностью диагностики депрессии у российского населения, в 2017 году Россия также являлась одной из стран лидеров по распространению депрессии (World Health Organization, 2017).

С другой стороны, по данным статистики Минздрава Российской Федерации в период с 1990 – 2019 год, количество россиян с душевными расстройствами постепенно снижается, но имеющиеся показатели все ещё остаются на высоком уровне.

Структура депрессивных расстройств включает в себя разнообразные виды нарушений включаемых в классификациях в различные типы состояний.

Депрессивный эпизод (F30 МКБ-10) характеризуется развитием у больного сниженного настроения и апатии, наблюдается снижение энергичности, как правило на фоне достаточно ярко выраженной ангедонии.

Депрессивный эпизод легкой степени (F32.0) – обычно выражены два-три основных симптома депрессии, таких как подавленное настроение, снижение концентрации и внимания, нарушение сна или потеря аппетита. Пациент, конечно, страдает от состояния ангедонии, но, будет в состоянии продолжать выполнять основные виды жизнедеятельности.

Депрессивный эпизод средней степени (F32.1) – выражены четыре и более основных симптомов депрессивного расстройства. Пациент, испытывает большие трудности в поддержании нормальной жизнедеятельности.

Депрессивный эпизод тяжелой степени без психотических симптомов (F32.2) – эпизод депрессии, при котором наблюдается весь спектр симптомов депрессивного расстройства, приносящих страдание пациенту; выражено снижение самооценки, присутствуют суицидальные мысли и мыслительные процессы о собственной никчемности.

Депрессивный эпизод тяжелой степени с психогенными симптомами (F32.3) – эпизод депрессии, но с наличием галлюцинаций, бреда, психомоторной заторможенности или ступора, настолько выраженного, что пациент утрачивает способность поддержания нормального уровня жизнедеятельности. Возникают риски для жизни вследствие появления навязчивых суицидальных мыслей, обезвоживания или голодания. Галлюцинации и бред могут соответствовать или не соответствовать настроению.

Другие депрессивные эпизоды (F32.8) – атипичная депрессия, при которой помимо основных симптомов депрессивного состояния добавляются

специфические признаки такие как повышение аппетита на фоне снижения массы тела и/или «эмоциональная реактивность».

Одним из наиболее распространенных типов депрессии является психогенная (МКБ-10) – это острые и длительные реакции здоровой психики на негативные события в эмоционально значимой для конкретного человека сфере (Sarris J., et al 2014). Психогенное депрессивное расстройство вызывает более глубокое расстройство как в психической, так и в общесоматической сфере. Степень выраженности симптомов по шкале Гамильтона составляет 42 балла, что в 2 раза выше по сравнению с невротической депрессией (Bound J., Hershbein B., Long B. T., 2009).

Депрессивные расстройства оказывают негативное влияние как на уровень жизни человека, так и на его профессиональную деятельность и более целесообразным способом решения проблемы является обращение за специализированной медицинской помощью. Однако, давление со стороны общества посредством различных общественных устоев, в частности рассмотрение психического расстройства как клейма недопустимого в современном мире, несущего угрозу как личной, так и профессиональной деятельности оказывают дополнительную нагрузку на человека и так страдающего от расстройства. Это приводит к тому, что около 60% людей с депрессией не обращаются за медицинской помощью (Chand S., Arif H., 2020). Представленная цепочка событий приводит к значительному искажению статистических данных и не позволяет полноценно оценить бремя депрессивных расстройств в психиатрии и обществе (Sørgaard K. W., et al., 2013; Chand S., Arif H., 2020; Liu X., et al., 2018).

В качестве альтернативы Министерство Здравоохранения РФ предпринимают множество усилий, направленных на помощь лицам страдающим от психических и депрессивных расстройств, однако отсутствие интеграции между службой охраны психического здоровья и первичной медицинской помощью приводит к затруднению своевременной диагностики и сбору некоренных

статистических данных по распространённости депрессии среди российского населения (Jenkins R., Goldberg D., Zacroeva A. G., Potasheva A., 2009).

1.3 Социальные факторы депрессии

Несмотря на стабильный рост распространенности депрессивного расстройства за последние 30 лет, ряд исследователей считают данное явление артефактом диагностической практики, однако в пользу опровержения этой теории выступает ряд современных исследований доказывающих возникновение новых причин, которые способствуют росту числа психических расстройств. Все чаще в патогенез депрессии вовлекается резко изменившийся образ жизни современного человека. В глобальном масштабе общество приходит к более сидячему образу жизни, росту конкуренции в профессиональной сфере, неправильному, несбалансированному питанию, нарушению режима труда и отдыха, что в сумме повышает давление между общественными единицами (Sarris J., et al., 2014).

Социальная среда в современных промышленно развитых странах, на фоне повышенной конкуренции за рабочие места, становится угрожающей и социально изолирующей. Значительное усиление конкуренции наблюдается уже с момента поступления в высшее учебное заведение, требования к абитуриентам в которых ежегодно возрастают (Bound J., Hershbein B., Long B. T., 2009). Молодые люди в достаточно раннем возрасте сталкиваются со смещением культурного акцента с внутренних целей, таких как социальные отношения, общность и компетентность, на внешние, такие как деньги, статус и внешность, что приводит к пребыванию в состоянии внутреннего напряжения и противоречиям возникающим в неокрепшей психике, а также постоянному стремлению соответствовать современным требованиям (Twenge J. M., et al., 2010).

Изменения в современной экономике направленные на повышение эффективности труда, приводят к усилению конкуренции за рабочие места, а также ещё большему укоренению страхов потери рабочего места (Gilbert P., 2006). В развивающихся странах в качестве дополнительного фактора отмечены тенденции

к росту общественного неравенства приводящие к повышению уровня социального недоверия, что является следствием ухудшения психического и соматического состояния на фоне постоянно сохраняющегося чувства беспокойства (Liebig S., 2012). В целом все вышеперечисленные процессы приводят к росту депрессивных расстройств, которые напрямую коррелируют с стрессовыми событиями в жизни человека (Kendler K. S., Karkowski L. M., Prescott C. A., 1999).

Несмотря на стремительный прирост численности городского населения (по данным Росстата за 2020 год, в России доля городского населения составляет 75%), который должен способствовать большему количеству социальных контактов, современные тенденции к изоляции общества вызывают тревогу среди психиатров и социологов. Одним из посредников изоляции общества является рост популярности «социальных сетей» как заразительного процесса с отсутствием обратной связи (зрительного, физического контакта и эмоциональной составляющей) (Karim F., et al., 2020), что в совокупности способствует ещё большей изоляции и одиночеству несмотря на сохранение постоянной связи с другими членами общества (Cacioppo J. T., Fowler J. H., Christakis N. A., 2009). В то время как социальная поддержка обеспечивает профилактическую защиту от развития депрессивного состояния, а слабые социальные связи усиливают уязвимость человека перед стрессом, хроническое течение которого значительно повышает вероятность развития депрессии (Prince M. J., Harwood R. H., Thomas A., Mann A. H., 1998).

Таким образом именно ухудшение социального климата и нестабильность социальных связей среди современного индустриального общества является одним из центральных компонентов роста депрессивных и ряда других психических расстройств среди населения во всем мире. Объясняется это постоянной потребностью человека к общению и получению признания в социальной группе (Baumeister R.F., Leary M. R., 1995; Ryan R. M., Deci E. L., 2000). Человек независимо от собственного желания постоянно находится в состоянии построения и поддержания социальных связей. Любые негативные изменения в этой сфере

жизни человека, такие как ухудшение отношений или их полное прекращение с последующим разрывом приводят к ухудшению психического здоровья.

Стрессовые ситуации окружающие человека способны вызывать стойкие психонейроэндокринные эффекты, приводящие к ещё большей социальной изоляции, ангедонии не позволяющей человеку испытывать чувство удовлетворённости, что в сумме характерно для лиц находящихся в состоянии депрессии (Chaouloff F., 2013). На фоне отсутствия своевременного лечения это приводит к более выраженному дисфункциональному социальному поведению, увеличению числа негативных социальных контактов, развитие более острых реакций человека как на негативный, так уже и на позитивный опыт взаимодействий с другими людьми (Baumeister R.F., Leary M. R., 1995; Ryan R. M., Deci E. L., 2000).

На фоне хрониечского стреесса приводящего к формированию депрессивного расстройства, достаточно часто развивается тревожное расстройство. Для которых харктерно чрезмерно выраженное чувство страха, беспокойства и постоянной подавленности. В итоге, сформировавшейся тревожно-депрессивное расстройство оказывает негативное влияние на когнитивные функции (Panagiota K., Montgomery A., Georganta K., 2019).

1.4 Современные средства лечения тревожных и депрессивных расстройств

Одним из наиболее эффективных и безопасных методов лечения депрессивного расстройства лёгкой степени остаётся психотерапия (Daphne V., Daskalakis Z. J., Blumberger D. M., 2020). Однако, в случаях с депрессивными расстройствами средней и тяжёлой степени одним из ключевых методов лечения остаётся эффективная фармакотерапия, в частности применение антидепрессантных препаратов (АД).

Согласно последним клиническим рекомендациям Российского Общества Психиатров 2019 года, наиболее эффективные и назначаемые препараты для лечения депрессии представлены ниже (Таблица 1):

Таблица 1. Препараты, используемые для лечения депрессии

Наименование	Стартовая доза (мг/сут)	Диапазон доз (мг/сут)
Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС)		
Пароксетин	20	20-50
Сертралин	50	50-200
Флувсксамин	50-100	100-300
Эсцителопрам	10	10-20
Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (СИОЗСиН)		
Венлафаксин	75	75-375
Дулоксетин	60	60-120
Блокаторы обратного захвата моноаминов (тетрациклические антидепрессанты)		
Амитриптилин	50-75	150-300
Имипрамин	25-75	150-300
Кломепрамин	50-75	100-250
Пипооезин	25-50	150-300
Норадренергические и специфические серотонинергические антидепрессанты (НаССА)		
Миансерин	30	60-90
Миртазапин	15-30	15-45
Специфические серотонинергические антидепрессанты (ССА)		
Тразодон	100	300-600
Обратимые селективные ингибиторы МАО-А		
Моклобемид	300	300-600
Пирлиндол	50-75	150-400
Мелатонинергические антидепрессанты		
Агомелатин	25	25-50
Серотониновые модуляторы и стимуляторы		
Вортиксетин	10	10-20

Перед началом лечебных мероприятий, составляется индивидуальный план лечения, который должен учитывать преемственность различных этапов терапии, учитывать эффективность предшествующей терапии, состояние пациента и особенности течения депрессивного расстройства, наличие суицидальных склонностей, ряда сопутствующих патологических процессов и других факторов, которые могут оказывать влияние на эффективность лечения.

Антидепрессантные препараты назначаются в минимальных эффективных дозах, а при отсутствии побочных эффектов или их редукции в течении нескольких дней, рекомендуется увеличить дозу до более эффективной. При отсутствии положительной динамики или недостаточности эффекта, спустя 3 недели рекомендуется повысить дозу до максимально эффективной.

Множество исследований и медицинская практика показывает, что наиболее эффективной и распространенной группой антидепрессантов являются трициклические антидепрессанты (ТЦА), на втором месте по эффективности и на первом по частоте назначений и безопасности находятся селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС).

Однако, не смотря на их популярность, выше представленные группы препаратов обладают большим спектром побочных эффектов и нежелательных лекарственных взаимодействий (Anderson I.M., 1998).

В медицинской практике наиболее частое применение группы СИОЗС, связано во многом с лучшей переносимостью и безопасностью для пациента, в сравнении с более старыми группами препаратов, такими как трициклические антидепрессанты.

Одним из наиболее значимых недостатков трициклических антидепрессантов является их неселективное ингибирование обратного захвата серотонина (Moraczewski J., Aedma A. A., 2020), норадреналина (Protti M., et al., 2020) и дофамина (Beeder L.A., Samplaski M. K., 2020) в пресинаптических везикулах головного мозга. Несмотря на высокий уровень эффективности при

лечении депрессивных расстройств, их воздействие на другие рецепторные системы, включая гистаминовые (Richelson E., 1979), холинергические (Ghossein N., Kang M., Lakhkar A. D., 2021), адренергические и постсинаптические серотониновые не связанные с патологией депрессии, приводит к развитию значительных, часто чрезмерных побочных эффектов, которые при длительном применении могут привести только к усугублению проблемы, что в свою очередь стало причиной ограничения их использования в клинической практике (Sankhi S., et al., 2020). Данные препараты имеют узкий терапевтический индекс, могут стать причиной гибели пациента в результате замедления внутрижелудочковой проводимости, что является следствием полной блокады сердца или желудочковой аритмии (Ferguson J. M., 2001).

Группа СИОЗС сравнима по эффективности с трициклическими антидепрессантами, но количество побочных эффектов значительно меньше (Anderson I.M., 1998). Одно из основных подтверждений большей безопасности СИОЗС является меньшее количество пациентов, прекративших терапию из-за побочных эффектов, в сравнении с ТЦА, также данная группа препаратов не вызывает нарушения сердечной проводимости при передозировке и имеет меньшую способность вызывать развитие судорог на фоне их приема. Благодаря этим характеристикам СИОЗС стали одними из самых назначаемых и эффективных препаратов для лечения депрессии (Feighner J.P., 1999).

Однако, группа СИОЗС также не лишена недостатков и только спустя продолжительное время клинических наблюдений было зафиксировано множество различных нежелательных побочных эффектов. В качестве примера было выявлено, что у пациентов принимающих СИОЗС установлено развитие сексуальной дисфункции в 75% случаев (Rosen R. C., Lane R. M., Menza M., 1999). У 1 из 200 пожилых пациентов развивается гипонатриемия (De Picker L., et al., 2014) (синдром недостаточности антидиуретического гормона). Достаточно часто прием данной группы препаратов приводит к первоочередному развитию побочных эффектов, а только в последующем развитию антидепрессантного

действия. В качестве побочных эффектов наиболее часто встречается повышение уровня тревожности, потери аппетита, головные боли, резкие перепады настроения, чувства боли, спутанность сознания, проблемы с координацией, галлюцинации, невозможность комбинации СИОЗС с другими группами серотонинергических препаратов (Ferguson J. M., 2001).

Почему частота и разновидность побочных эффектов при приеме СИОЗС увеличилась только по истечению значительного промежутка времени?

Дозировки, применяемые на ранних этапах клинических испытаний, были недостаточны для полного понимания профиля побочных эффектов (Goldstein B. J., Goodnick P. G., 1998).

Во время клинических испытаний, данные о нежелательных эффектах собирались путем опросов пациентов, а также данных, полученных в результате лабораторных анализов и физических обследований пациентов. К примеру, многим пациентам было неловко сообщать о проблемах, возникающих с их сексуальной функцией (Goldstein B. J., Goodnick P. G., 1998).

Строгие критерии включения и исключения пациентов не позволили участвовать в клинических исследованиях людям со значительными сопутствующими заболеваниями (Goldstein B. J., Goodnick P. G., 1998).

Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина переносятся пациентами более благополучно в сравнении с трициклическими антидепрессантами. Однако, значительное число побочных эффектов также часто становится причиной ограничения их применения. Следовательно, существует потребность в новых лекарственных средствах для более эффективного лечения депрессии (Amber E., et al., 2019). Богатый опыт применения СИОЗС создал основу для следующего поколения антидепрессантов, которые по крайней мере не будут уступать в активности, обладая лучшей переносимостью и безопасностью, чем их предшественники.

Препараты из группы СИОЗСиН являются мощными ингибиторами обратного захвата серотонина и норадреналина, данные нейротрансмиттеры играют важную роль в регуляции настроения человека, СИОЗСиН запускают процесс двойного ингибирования обратного захвата моноаминов, что предоставляет им преимущество перед СИОЗС посредством устранения большего спектра симптомов депрессивного расстройства. Данная группа препаратов часто назначается в качестве альтернативы СИОЗС и включает в себя 3 препарата: венлафаксин, милнаципран и дулоксетин. Милнаципрану характерна равностепенная блокада обратного захвата как 5-НТ так и норэпинефрина (Stahl S.M., Grady M. M., Moret C., Briley M., 2005). Каждый из вышеперечисленных препаратов обладает различной степенью переносимости пациентами, однако им свойственно большее количество побочных эффектов в сравнении с СИОЗС (Stahl S.M., Grady M. M., Moret C., Briley M., 2005).

Одной из самых молодых групп антидепрессантов являются мелатонинергические антидепрессанты (АД) (Wang S. M., et al., 2020) единственным представителем которой является препарат агомелатин – синтетический аналог мелатонина. Данный препарат является агонистом мелатонинергических рецепторов MT1 и MT2 и антагонистом серотониновых рецепторов 5HT2C (Hsing S. C., et al., 2020). Одним из главных недостатков данной группы антидепрессантов является строгое противопоказание к применению среди пациентов с печеночной недостаточностью и другими патологическими процессами в печени. Также агомелатин обладает крайне низкой биодоступностью (Tawfik M. A., Tadros M. I., Mohamed M. I., Nageeb E., 2020) связанной с интенсивным метаболизмом при первом прохождении в печени (Manikandan S., 2010). Продажа препарата была впервые одобрена на территории ЕС в 2009 году, однако по сегодняшний день опубликованные результаты исследований показывают противоречивые результаты о его эффективности и полное отсутствие сравнения с другими классами антидепрессантов. В исследованиях принимали участие всего несколько сотен пациентов, а максимальным период наблюдения за терапией составлял только 24 недели (Manikandan S., 2010).

1.5 Психотропная активность производных адамантана

Адамантан – бесцветное кристаллическое химическое соединение с камфорным запахом, а также самый простой диамондоид. Молекулы адамантана состоят из трех связанных циклогексановых колец, расположенных в конфигурации «кресло». Адамантан является наиболее стабильным из всех изомеров с формулой C10H16, которые включают несколько положений твистан. Пространственное расположение атомов углерода в молекуле адамантана такое же, как и в кристаллах алмаза. Это поспособствовало названию «Адамантан» от греческого «адамантино» (алмаз) (National Library of Medicine., 2021).

В 1964 году было обнаружено, что простой первичный амин, несущий C10H15 алкильный остаток, проявляет сильные противовирусные свойства против вируса гриппа типа A (Wanka L., Iqbal K., Schreiner P. R., 2013). Вскоре после этого была обнаружена противовирусная активность этого амина в отношении вируса краснухи и других вирусных мишеней.

Это повлекло за собой достаточно быстрое появление на рынке противовирусных препаратов, включающих аминоадамантановые фрагменты. Для некоторых препаратов впоследствии были выявлены психотропные свойства (Wanka L., Iqbal K., Schreiner P. R., 2013). На основе адамантановой структуры создан целый ряд фармакологических средств, обладающих противопаркинсонической, адаптогенной (Lupp A., et al., 1992), психостимулирующей (Kudrin V.S., Krasnykh L. M., Miroshnichenko I. I., Grekhova T. V., 1995), анксиолитической (Kudrin V.S., et al., 1995) и антидепрессантной (Lupp A., et al., 1992) активностью.

Подробный, но не полный обзор патентной литературы показывает огромный диапазон фармацевтических композиций, которые содержат адамантановую группу (Таблица 2). Необходимо отметить, что некоторая часть представленных соединений является коммерческими лекарственными средствами или, находятся на стадии клинических исследований. Также обращает на себя

внимание, что одни препарат используется для лечения различных патологических процессов и обладают полифармакологическим действием (Lamoureux G., Artavia G., 2010).

Таблица 2. Фармацевтические композиции, содержащие в структуре адамантановые группы, данные патентной литературы

Патент	Год	Название	Эффект
US 3,328,251	1967	Амино-2-адм	Противовирусная активность
US 3,352,912	1967	Ремантадин	Противовирусная активность
US 3,374,244	1968	Адм-карбоксамид	Противоспалительная и антибактериальная активность
US 3,391,142	1968	2-амино-1-адамантан	Противовирусная активность
US 3,439,036	1969	Дифинил-ацетамино-адамантан	Анальгетическая активность
US 3.464,998	1969	Adm-Pyridinecarboxylate	Противоязвенное, антимикробная
US 3,471,491	1969	Adm-Triazines	Антимикробная, гипогликемическая
US 3,625,985	1971	Adm-carboxamido acids	Антибиотик
DE 1,943,404	1971	Adm-alkylamines	Антидепрессант
DE 1,941,218	1972	Троматадин	Противовирусное
US 3,789,072	1974	Adm-carboxamides	Ингибитор серотонина
US 3,789,073	1974	Adm-alkylaminobenzamides	Антиаритмическое средство
US 3,929,888	1975	Phenyl-Adm-alkylamines	Антипаркинсоничекое, антидепрессант
US 4,001,223	1977	Adm-piperazines	Церебральный вазодилататор
US 4,016,271	1977	Adm-carboxylate steroids	Иммуностимулятор
US 4,051,256	1977	Adm-guanidines	Риновирусные инфекции
US 4,122,193	1978	Мемантин	Противопаркинсоническое
US 4,273,704	1981	Adm-enkephalins	Анальгетическая активность
US 4,288,609	1981	Amantol	Противогрибковая, антибактериальная активность
US 4,515,715	1984	Ala-IsoGlu-Adm	Иммуностимулятор
US 4,448,972	1984	Adm-ethanoylprolines	Гипотензивное средство

US 4,661,512	1987	Pyroglutamide-Adm	Противосудорожное средство
US 4,692,515	1987	Adm-spirolactams	Противомикробное средство
US 4,739,074	1988	Adm-spiropyrrolidines	Противоотечное средство
US 4,751,292	1988	Adm-purines	Цитокинин
US 4,797,489	1989	Adm-phenylpiperazines	Антидепрессант, Анксиолитик
WO 93/08182	1993	HT-90B	Антидепрессант
US 5,480,905	1996	Adm-carboxamidobenzodioxanes	Анксиолитик, антидепрессант
US 5,482,940	1996	Adm-carboxamidopiperazines	Анксиолитик,
Eur 699,438	1996	SR-48692	Анксиолитический эффект, нейролептик
US 5,650,406	1997	N-Heterocyclic-Adm	Противошизофренический препарат
WO 99/20599	1999	Acylguanidine-Adm	Нейродегенеративные свойства
US 6,057,364	2000	Fluoro-substituted-Adm	Лечение неврологических расстройств
US 6,878,736	2005	Adm-pyrrolidinylguanidines	Гистаминовый ингибитор Н3
US 7,129,246	2006	Nicotinamido-Adm	Иммуностимулятор
US 7,145,037	2006	Adm-amidines	Антидепрессант, нейропротектор
WO 2010146404A1	2011	l-(3-tosyloxypropyl)adamantane	Противоопухолевая активность
TW 201615617A	2019	adamantane-1-carboxylic acid	Антиандроген
WO 2021111311A2	2021	2-((2-((4-(4-(5-acrylamidoadamantan-2-yl)piperazin-1-yl)-2-methoxyphenyl)amino)-5-(Preparation of trifluoromethyl)pyrimidin-4-yl)amino)-3-dimethylbenzamide	Ингибитор циклин-зависимой киназы

Уникальность адамантанового каркаса для поиска биологически активных соединений обусловлена его липофильностью и способностью обеспечивать стабильность лекарственному средству, что приводит к улучшению

фармакокинетики модифицированных лекарственных препаратов. Адамантан защищает соединение и его функциональные группы от метаболического расщепления, что повышает стабильность и распределение препарата в плазме крови. Кроме того, адамантановая структура способствует прохождению через гематоэнцефалический барьер, что позволяет ей протаскивать за собой большинство прикреплённых к структуре радикалов (Štimac A., et al., 2017).

Известно, что противовирусный препарат зивудин достаточно слабо проникает через гематоэнцефалический барьер, однако прикрепление к его структуре 1-адамантанового фрагмента, способствовало увеличению его концентрации в головном мозге в 18 раз в сравнении с зивудином, который вводился в чистом виде (Tsuzuki N., et al., 1994).

Около 98% лекарственных средств, которые оказывают влияние на центральную нервную систему (ЦНС) (Pardridge W.M., 2020) обладают незначительной способностью прохождения через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Однако, добавление к ним структуры адамантана повышало вероятность прохождения через ГЭБ и способствовало большему распределению в головном мозге (Lamoureux G., Artavia G., 2010).

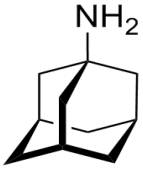
Агонисты 2-адренорецепторов которые используются при лечении астмы и связанных с ней патологических процессов в лёгких обладают непродолжительным действием, что является причиной их частого применения, доставляя дискомфорт, трудности дозирования и неудобство прохождения курса препарата. Исследование профинансированное фармакологической компанией Pfizer позволило установить наличие корреляции между уровнем липофильности и продолжительностью действия препарата, что позволило им в дальнейшем использовать адамантановые структуры для достижения более длительной продолжительности действия исследуемого препарата (Lamoureux G., Artavia G., 2010).

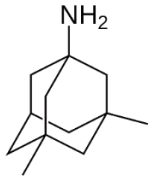
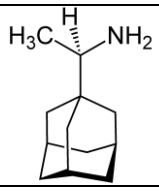
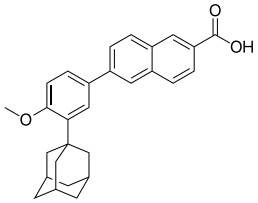
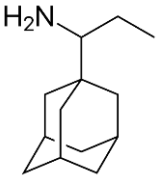
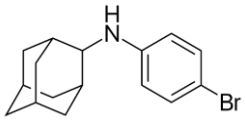
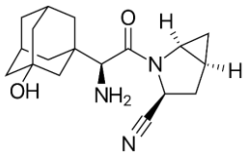
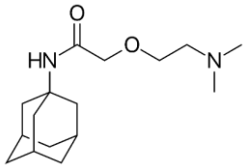
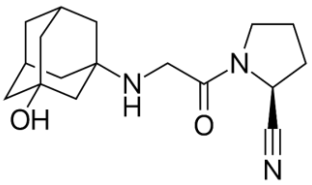
Способность адамантана проходить через гематоэнцефалический барьер была подтверждена и доказана экспериментально в 1991 году. Опираясь на информацию о способности адамантановой структуры проникать через

гематоэнцефалический барьер, был получен 1-аминоадамантан гидрохлорид (Амантадин), который успешно применялся для лечения болезни Паркинсона. Наиболее известным аналогом 1-аминоадамантана является препарат мемантин который также применяется для лечения Паркинсонизма и болезни Альцгеймера. Основываясь на физико-химических особенностях адамантановой структуры, адамантановый фрагмент способствовал повышению проникновения через гематоэнцефалический барьер лей-энкефалина.

Лей-энкефалин проявляет антинонацицептивную активность (обезболивающий эффект) после прямой внутривисцеральной инъекции, но не проявляет активность на фоне периферического введения. Это связано главным образом с его нестабильностью по отношению к протеолитическим ферментам и плохой проницаемостью через ГЭБ. Добавление адамантановой структуры к лей-энкефалину было логически обосновано, так как это теоретически увеличивало липофильность, что должно способствовать увеличению проницаемости через ГЭБ. В результате цель была достигнута и данные предварительных экспериментов на морских-свинках свидетельствовали, что добавление адамантановой структуры к лей-энкейфалину привило к появлению антиноцицептивных эффектов при пероральном введении, что свидетельствует о повышении липофильности соединения. Это позволяет предположить, что низкая токсичность и высокая липофильность адамантанового фрагмента способствует его использованию в качестве носителя лекарственных средств (Tsuzuki N., et al., 1994).

Таблица 3. Применяемые в клинической практике представители производных адаманатана

Формула	Название препарата	Фармакологическое действие
	Мидантан, ПК-МЕРЦ (действующее вещество амантадин)	Противовирусное, противопаркинсоническое средство с антидепрессантной активностью

	Мемантин	Противопоркенсоническое средство с ноотропной активностью
	Ремантадин	Противовирусное лекарственное средство
	Адапален	Ретиноид используемый для лечения угрей и других заболеваний кожи
	Адапромин	Противовирусное средство
	Бромантан	Анксиолитик, адаптоген
	Саксаглиптин	Гипогликемический препарат
	Тромантадин	Противовирусное средство
	Вилдаглиптин	Антигипергликемический препарат

Согласно классификации К.К. Сидорова и ГОСТу 12.1.007-76 "Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности", все изучаемые вещества с LD_{50} более 500 мг/кг относятся к малоопасным и малотоксичным соединениям.

Таблица 4. LD_{50} производных адамантана

Название	LD_{50}
Амантадин	700 мг/кг (Vernier V., et al., 1969)
Ремантадин	640 мг/кг (National Library of Medicine., 2021)
Мемантин	500 мг/к (Kuns. B., 2020)
Адапален	5000 мг/кг (National Library of Medicine., 2021)

Таким образом уникальные структурные и химические свойства адамантана и его низкая токсичность обеспечивают перспективность использования данной структуры при разработке различных каркасов и носителей для доставки лекарственных средств. Адамантан возможно использовать как строительный блок, к которому ковалентно присоединяются различные функциональные группы или как часть самосборных супрамолекулярных (ансамбли, состоящие из двух и более молекул, удерживаемых вместе посредством межмолекулярных взаимодействий) систем, где адаманатан реализует липофильные функции и обеспечивает взаимодействие между липидной структурой и прикрепленному к адамантану радикалу (Štimac A., et al., 2017).

Амантадин

Аманатадин является противовирусным средством с умеренной антипаркинсонической активностью (Vaz R. L., et al., 2020). В настоящее время препарат используется для лечения болезни Паркинсона (Jiménez-Jiménez F.J., et al., 2020). Клинические испытания доказали, что амантадин уменьшает симптомы брадикинезии, ригидности и тремора (Cortés-Borra A., Aranda-Abreu G. E., 2021). В 2012 году было установлено, что амантадин ускоряет восстановления функций пациентов с тяжелыми черепно-мозговыми травмами (Loggini A., et al., 2020). Амантадин снижает степень выраженности стереотипного поведения вызванного галоперидолом до уровня нормального поведения (Allen R. M., Lane J. D., Brauchi J. T., 1980), реализация фармакологического действия препарата осуществляется посредством влияние на дофоминовые рецепторы (Chang C., Ramphul K., 2020).

Также амантадин является неконкурентным антагонистом NMDA рецепторов, который увеличивает высвобождение дофамина и предотвращает его обратный захват. Хотя амантадин не обладает антихолинергической активностью, могут наблюдаться антихолинергические побочные эффекты, такие как сухость во рту, задержка мочи и запоры кишечника (Štimac A., et al., 2017).

Все доклинические исследования свидетельствуют, что амантадин может снижать депрессивную симптоматику и усиливать антидепрессивное действие моноаминергических препаратов. В дополнение к его глутаматергическому и дофаминергическому эффекту, потенциальный антидепрессантный эффект связан с молекулярными и клеточными действиями, такими как повышенная экспрессия нейротрофического фактора GDNF, активация рецепторов сигма-1, снижение уровня кортикостерона и снижение воспалительной реакции на стресс (Raupp-Barcaro I. F., et al., 2018).

Мемантин

Мемантин является антагонистом подтипа рецептора глутамата NMDA-рецептора (Kikuchi T., 2020). Он уменьшает нейротоксичность, которая, считается связана с болезнью Альцгеймера и другими нейродегенеративными заболеваниями. Блокируя NMDA рецепторы, мемантин предотвращает чрезмерную активацию глутаматных рецепторов, одновременно обеспечивая его нормальное функционирование (Kuns B., 2020).

Мемантин также проявляет антагонистическую активность в отношении никотиновых рецепторов и серотонинэргических рецепторов типа 3 (5-НТ3) (Hasanagic S., 2020). Однако, препарат не обладает активностью в отношении ГАМК, бензодиазепиновых, дофаминовых и адренергических рецепторов (Kuns B., 2020).

Бромантан

Бромантан (Ладастен), является атипичным психостимулятором и анксиолитиком, который использовался в РФ для лечения неврастении и синдрома

хронической усталости. Предполагается, что эффекты бромантана зависят от допаминергической и серотонинергической нейротрансмиттерных систем, однако точный механизм действия препарата неизвестен.

Психостимулирующее и анксиолитическое действие бромантана определяет его высокую терапевтическую эффективность при астенических расстройствах. Поэтому бромантан иногда описывается как адаптоген и актопротектор (Oliynyk S., Seikwan O., 2012).

Исследования антидепрессантного действия бромантана продемонстрировали его эффективность в нормализации состояния животных после воздействия острого и хронического стресса (Iarkova M. A., et al., 2005; Tallerova A. V., et al., 2014).

Таким образом, многие производные адамантана обладают антидепрессантным действием, доказанным доклиническими или клиническими исследованиями.

1.6 Психотропная активность производных ГАМК

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) — это основной тормозящий нейротрансмиттер в головном и спинном мозге (Hepsomali P., et al., 2020).

ГАМК связывается с двумя основными постсинаптическими рецепторами, ГАМК-А и ГАМК-В. Рецептор ГАМК-А представляет собой ионотропный рецептор, который увеличивает проводимость хлорид-иона в клетку в присутствии ГАМК (Jeffrey S., Hines R. M., 2020). Внеклеточная концентрация хлорида обычно намного выше, чем внутриклеточная концентрация. Следовательно, приток отрицательно заряженных хлорид-ионов гиперполяризует клетку, препятствуя созданию потенциала действия. Рецептор ГАМК-В функционирует через метаботропный рецептор, связанный с G-белком, который увеличивает постсинаптическую проводимость калия и уменьшает пресинаптическую кальциевую проводимость, которая, следовательно, гиперполяризует постсинаптическую клетку и предотвращает проведение потенциала действия в

пресинаптической клетке. Следовательно, независимо от связывания с рецепторами ГАМК-А или ГАМК-В, гамма-аминомасляная кислота выполняет ингибирующую функцию (Boonstra E., et al., 2015; Jewett B. E., 2021).

Поскольку ГАМК является основным нейротрансмиттером для ингибирования нейронного возбуждения, его функция определяется сложными цепями по всей центральной нервной системе. Например, ГАМК высвобождается стриатальными нейронами как прямыми, так и непрямыми путями, которые в свою очередь, распространяют нейрональные сигналы ГАМК в другие области мозга, подавляя нежелательные двигательные сигналы. Другим примером является то, что передача сигналов ГАМК в мозговом веществе участвует в поддержании частоты дыхания, а повышение передачи сигналов ГАМК снижает частоту дыхания. Третий пример обнаружен в спинном мозге, где ГАМК функционирует в тормозных интернейронах. Эти нейроны помогают интегрировать возбуждающие проприоцептивные сигналы, позволяя спинному мозгу интегрировать сенсорную информацию и создавать плавные движения (Tong Y., 2014; Raymond L. A., 2017; Wang Q., et al., 2019).

ГАМК синтезируется в цитоплазме пресинаптического нейрона из предшественника глутамата с помощью фермента глутамат декарбоксилазы, фермента, который использует витамин B6 (пиридоксин) в качестве кофактора. После синтеза он загружается в синаптические везикулы с помощью везикулярного ингибирующего переносчика аминокислот. Когда потенциал действия достигает пресинаптической клетки, потенциал-управляемые кальциевые каналы открываются, и кальций связывается с синаптобревином, что приводит к слиянию пузырька с плазматической мембраной и высвобождает ГАМК в синаптическую щель, где может связываться с рецепторами ГАМК.

В последующем ГАМК обладает возможностью утилизироваться внеклеточно (ГАМК-трансаминаза распадается на сукцинатный полуальдегид, который затем входит в цикл лимонной кислоты) (Boonstra E., et al., 2015; Jewett B.

E., 2021) или возвращаться обратно в глию и пресинаптическую клетку (Boonstra. E., 2015; Jewett B. E., 2021).

Нарушение в передаче сигналов ГАМК связано со множеством неврологических и психиатрических состояний. Модуляция передачи сигналов ГАМК является основой многих фармакологических методов лечения в неврологии, психиатрии и анестезии (Jewett B. E., 2021).

Существует множество применяемых препаратов, которые модулируют передачу сигналов ГАМК. Бензодиазепины – это класс лекарств, который оказывает свое влияние, связываясь с рецептором ГАМК-А, что приводит к увеличению проницаемости хлорид-ионов за счет изменения частоты, с которой открываются хлоридные каналы. Они используются в хирургической анестезии, лечении эпилепсии, расстройств быстрого сна, алкоголизме, треморе и мышечной спастичности, но несмотря на высокую эффективность, препараты данной группы способны вызывать физическую и психологическую зависимость. Бензодиазепины используются при лечении алкоголизма, при этом этанол также оказывает влияние на рецептор ГАМК-А (Ahnert-Hilger G., 1996; Korpi E. R., Sinkkonen E. R., 2006; Jembrek M. J., Vlainic J., 2015; Wan Q., et al., 2015).

На данный момент известны следующие группы препаратов, оказывающих влияние на ГАМК-ергическую систему:

-бензодиазепины, психоактивные вещества с выраженным анксиолитическим, снотворным и седативным эффектом, реализующие собственные эффекты посредством агонизма ГАМК-А бензодиазепинового комплекса

-барбитураты, седативные препараты, которые увеличивают продолжительность открытия хлоридного канала, когда ГАМК связывается с рецептором ГАМК-А

-вигабатрин, препарат с противоэпилептическим действием, являющийся ингибитором ГАМК-трансаминазы

-пропофол, седативное средство, обычно используемое при общей анестезии и аллостерическом модуляторе, агонист рецептора ГАМК-А

-флумазенил, антагонист бензодиазепиновых рецепторов, связывающийся с рецепторами ГАМК-А и способный нейтрализовать бензодиазепиновую интоксикацию и улучшить психическое состояние при печеночной энцефалопатии

-баклофен, миорелаксант и агонист ГАМК-В

-вальпроевая кислота, стабилизатор настроения и антиэпилептик, который оказывает ингибирующее влияние на поглощение ГАМК

-золпидем, седативный-снотворный препарат, оказывающий влияние на рецептор ГАМК-А

-габапентин, обычно назначаемый для лечения нейропатической боли, усиливая синтез ГАМК путем модуляции глутаматдегидрогеназы (Ahnert-Hilger G., 1996; Korpi E. R., Sinkkonen E. R., 2006; Jembrek M. J., Vlainic J., 2015; Wan Q., et al., 2015).

Толибут

Толибут – толилсодержащий аналог ГАМК, который по результатам доклинических исследований, обладает достаточно широким спектром фармакологической активности: анальгетической (Dmitriev A. V., Andreev N. I., 1987), транквилизирующей (Dmitriev A. V., Andreev N. I., 1987), нейропротекторной (Tyurenkov I. N., et al., 2016), седативной и миорелаксирующей (Тюренков И. Н., и др., 2012). По ряду фармакологических эффектов толибут многократно превосходит фенибут, однако последний оказался менее токсичным и получил дальнейшее развитие с внедрением в практику (Тюренков И. Н., и др., 2011).

Фенибут

Посредством модификации структуры ГАМК было создано значительное число лекарственных препаратов с анксилитической активностью (Ahuja T., et al.,

2018). Фенибут является фенильным производным ГАМК в β-положении и являясь агонистом ГАМК подтипа А и В, обладает анксиолитической и ноотропной активностью (Ahuja T., et al., 2018). Препарат эффективен при лечении тревожных расстройств, депрессий, посттравматического стрессового расстройства. Структурные аналоги фенбута с талильным и хлорфенильным заместителем в β-положении проявляют большую активность в отношении ГАМК. Хотя фенибут структурно схож с баклофеном (агонистом ГАМК В-рецепторов), первый в 30 раз менее активен (Hardman M. I., Sprung J.,, Weingarten T. N., 2019). Также исследования показывают аналогичный механизм действия у фенибута и габапентина, который широко используется для лечения тревожных расстройств и невропатической боли (Ahuja T., et al., 2018).

1.7 Заключение

Таким образом, активность производных ГАМК и альфа-пирролидона в значительной степени зависит от повышения липофильности молекулы, при этом структура адамантана помимо улучшения фармакокинетических параметров, может добавить разрабатываемому препарату дополнительные фармакологические свойства, способные повысить эффективность коррекции тревожно-депрессивных расстройств.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Экспериментальные животные

Экспериментальные исследования осуществлялись на 380 крысах самцах линии «Wistar» массой 200-250 г, а также на 330 самцах и 30 самках мышей весом 18-25 г. Лабораторные животные приобретены в питомнике лабораторных животных (ФГУП питомник лабораторных животных «Рапполово»), д. Рапполово, Всеволожский р-н, Ленинградская обл., Россия.

Все манипуляции с лабораторными животными и условия их содержания проводились с соблюдением всех требований лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», [ГОСТ 33044-2014]. Межгосударственный стандарт. Принципы надлежащей лабораторной практики. – М.: Стандартинформ, 2015. – 11 с.) со свободным доступом к воде и пище (гранулированный корм ([ГОСТ Р 51849-2001], ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия) и в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 №51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

Грызуны содержались в специализированных пластиковых клетках, габариты которых составляли 545х395х200 мм (Тип: Т/4В, ООО «МЭСТ», г. Москва). В качестве подстила использовались мягкие древесные стружки. Поверхность клеток оборудована стальными решетчатыми крышками с углублениями для корма. Животные получали круглосуточный доступ к пище и воде ([ГОСТ «Вода питьевая» 2874–82] и СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения»), последняя менялась ежедневно.

Кормление животных осуществлялось гранулированным комбикормом ([ГОСТ Р 51849-2001], ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия), зернопродуктами и овощами. В состав 100 г комбикорма входит: 18% - белов, 6% жиров, 7% зольных продуктов, 3,5% клетчатки, а также витамины А – 5000 МЕ, D – 500 МЕ, Е – 50 МЕ.

Животные содержались в условиях 12-часового цикла освещения (люминесцентное), температура воздуха составляла от 20 до 22°С, а уровень влажности варьировал от 40 до 60%.

Лабораторные животные помещались в условия вивария только после ожидания в карантинной зоне. Предварительно перед их размещением зона вивария обрабатывалась передвижными бактерицидными лампами, также данная манипуляция осуществлялась еженедельно в периоды проведения экспериментальных сессий.

Все экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с требованиями действующего «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Миронов А. Н., 2012), со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2010, № 16, ст. 1815; № 31, ст. 4161) и согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Межгосударственный стандарт [ГОСТ 33044-2014] и Приказ Минздрава России от 01.04.2016 N 199н "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Все методические подходы использовались в соответственными требованиями «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.)».

Процедуры с участием лабораторных животных осуществлялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. «О защите животных, использующихся для научных целей».

Экспериментальное исследование одобрено этическим комитетом (справка №2021/034 от 19.04.2021 года). Для исключения возможного негативного влияния на результаты исследования циркадных биоритмов все экспериментальные исследования проводились в одинаковые интервалы времени и при одинаковых климатических условиях (все продолжительные исследования планировались таким образом, чтобы сроки их выполнения могли укладываться в одно и тоже время года (весна), во избежание резких изменений погоды). Проведение 2-х недельного ежедневного хэндлинга перед проведением экспериментальных сессий позволили исключить негативное влияние адаптации животных к человеческому фактору. Также это давало возможность оценить состояние здоровья лабораторных животных на предмет внешних повреждений (состояние шерстяного покрова, слизистых оболочек, поведения). Эвтаназия проведена согласно правилам «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Миронов А. Н., 2012).

2.2. Исследуемые соединения и препараты сравнения

В работе проводилось исследование 7-ми новых производных ГАМК и альфа-пирролидона под следующими лабораторными шифрами ANR, IE, BKM и TIM. Все исследуемые соединения были синтезированы на кафедре органической химии Самарского государственного технического университета (Самара, Россия). Лабораторные шифры, структурные формулы и молекулярные массы исследуемых соединений представлены ниже (Таблица 5, Таблица 6).

В качестве препаратов сравнения использовались: Фонтурацетам «Фенотропил» – 20 мг/кг (синтезирован на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.Н. Герцена (Санкт-Петербург, Россия), Диазепам – 1 мг/кг (Simplex pharma Pvt. Ltd., Индия), Флуоксетин 20 мг/кг (Флуоксетин-Канон, капс; ЗАО «Канонфарма продакшн», Щелково, Россия), Имипрамин 15 мг/кг (Мелипрамин, р-р 25 мг/кг; ОАО Фармацевтический завод ЭГИС, Будапешт, Венгрия), Фенибут 20 мг/кг (субстанция, получена на каф. органической химии РГПУ им. А.И. Герцена, Санкт-

Петербург, Россия), Амантадин 60 мг/кг (Merz Pharma, Германия), Цитиколин 500 мг/кг (Феррер Интернасьональ С.А.).

Примичание: выражаем особую благодарность за предаставление Фонтурацетама Российский государственный педагогический университет им. А.Н. Герцена.

Таблица 5. Структуры адамантановых производных ГАМК

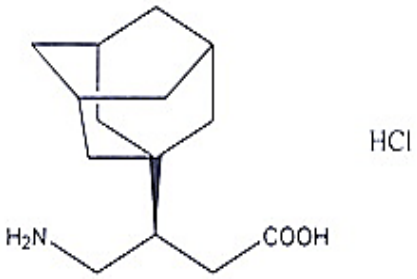
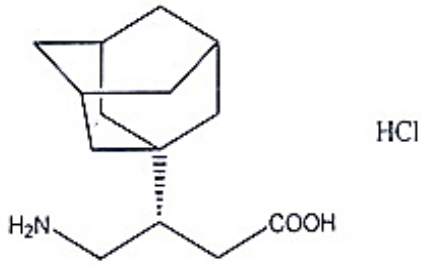
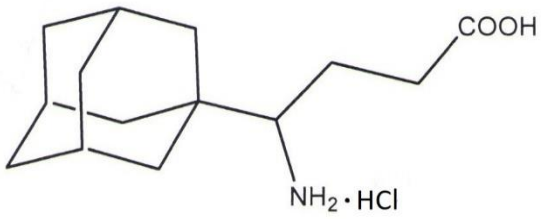
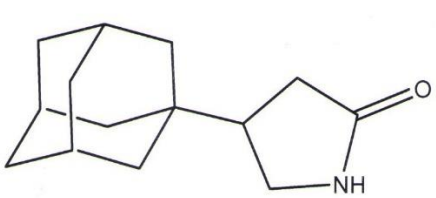
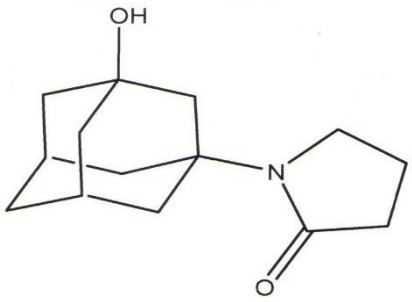
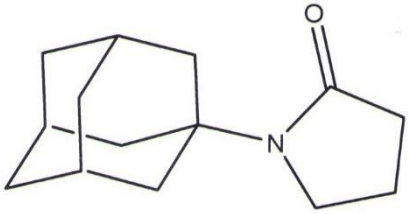
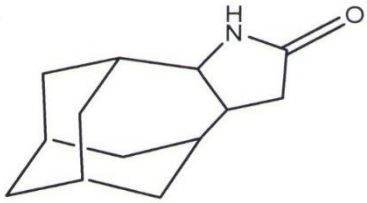
№	Шифр	Структурная формула	Mr, а.е.м.
1	ANR-03 (R)-(3-адамант-1-ил)-4-аминобутановая кислота хлоргидрат		273,8
2	ANR-04 (S)-(3-адамант-1-ил)-4-аминобутановая кислота хлоргидрат		273,8
3	BKM-22 4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота		273

Таблица 6. Структуры адамантановых производных альфа-пирролидона

№	Шифр	Структурная формула	Mr, а.е.м.
4	ANR-10 4-(1-адамантил) пирролидин-2-он рацемат		219
5	IE-1 1-(3-гидроксиадамантан-1-ил)пирролидин-2-он		235
6	TIM 2 1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он		219
7	TIM 3 (3aS, 10aS)-декагидро-4,8:6,10-диметаноциклонон[b]пиррол-2(1H)-он)		205

Все соединения исследуемого ряда вводились внутрижелудочно.

На первых этапах исследования при изучении спектра психотропного действия исследуемые (ANR-03, ANR-04, ANR-10, IE-1, TIM-2, TIM-3, BKM-22) вводились однократно перорально в эквимолярных дозах (в соотношении 1/40, 1/20, 1/10 и 1/5 1/40 от Mr). Проведенное исследование психотропной активности исследуемых соединений на этапе скрининга позволило выявить большую эффективность в эквимолярной дозе составляющей 1/20 от молекулярной массы.

Растворение исследуемых веществ осуществлялось при помощи физиологического раствора (объем вводимой жидкости на животное составлялся из расчета 0,5 мл на 100 г массы тела). После проведения расчётов введение веществ осуществлялось перорально за 60 минут до начала каждой экспериментальной сессии. Для исключения влияния фактора введения веществ животные относящийся к контрольной группе в качестве субстанции получали физиологический раствор в эквивалентном объеме. Все исследуемые соединения, препараты сравнения и физиологический раствор вводились грызунам с помощью специализированных желудочных зондов, предназначенных для крыс и мышей.

2.3. Дизайн исследования

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

2.4. Методы исследования психотропного действия адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона

2.4.1 Открытое поле

Тест «Открытое поле» (Воронина Т. А., 2000,2012; Островская, Р.У., 2012) позволяет оценить выраженность отдельных поведенческих элементов, главным образом двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность. Установка теста Открытое поле (Open Science, Россия) для крыс представляет собой круглую площадку диаметром 97 см ограниченную бортами высотой 40 см, разделенную разметкой на 25 равных секторов, на пересечении которых находятся 16 отверстий (диаметром 2 см). Установка освещается равномерным светом (400 люкс). Для очистки установки и снижения влияния на поведение посторонних запахов (вследствие пребывания предыдущего животного) перед каждым тестированием установка протирается смоченной водой салфеткой, салфеткой, смоченной 5% раствором спирта и сухой. После полного высыхания поверхности установки тестируемое животное помещали в центральную зону площадки хвостом к экспериментатору и наблюдали за его поведением в течении 3-х минут, регистрируя следующие показатели:

– количество пересеченных квадратов, трактуемое как спонтанная двигательная активность;

– суммарное количество стоек и обследованных отверстий-норок – трактуемое как ориентировочно-исследовательская активность;

– количество выходов в центральную зону и сумма пересеченных квадратов в ней – трактуемое как показатель выраженности тревожного состояния грызунов в связи с эволюционно сформировавшимся страхом открытых пространств, так частые выходы в центр установки и большое количество пересеченных в ней квадратов свидетельствует о низком уровне тревоги;

– число актов кратковременного груминга (<1 сек.) представляет собой непродолжительные движения передними лапами, направленные на очистку

сенсорных систем (органов зрения, слуха и осязания) – увеличение количества актов кратковременного груминга необходимо для лучшей ориентации животного в новых условиях, что свидетельствует о повышенном уровне тревоги;

– число актов продолжительного груминга (> 3 сек.) представляет собой движения передними лапами, направленные на очистку/уход за сенсорными системами и поверхностью тела животного в гигиенических целях – увеличение количества актов продолжительного груминга свидетельствует о низком уровне эмоциональной напряженности и тревоги.

– число дефекаций и уринаций позволяет определить влияние тревоги на вегетативную систему (большее число соответствует большей тревожности).

2.4.2 Приподнятый крестообразный лабиринт

Тест Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) (Воронина Т.А., 2000,2012; Островская, Р. У., 2012) используется для изучения поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий), позволяет оценить уровень тревожности животного и используется для скрининговой оценки анксиолитической активности исследуемых соединений. Рекомендуемые референтные препараты: фенибут, диазепам и др.

Установка ПКЛ состоит из крестообразно расходящихся от центральной площадки (10х10 см) под прямым углом 4-х рукавов размерами 50х14 см каждый: два противоположных, открытых, без стенок (высота бортика 1 см) и два закрытых, темных, огороженных по бокам стенками высотой 30 см. Крестообразная арена лабиринта устанавливается на тележку со стопорами, обеспечивающую подъем арены на высоту 55 см. Установка освещается равномерным светом (400 люкс). Для очистки установки и снижения влияния на поведение посторонних запахов (вследствие пребывания предыдущего животного) перед каждым тестированием установка протирается смоченной водой салфеткой, салфеткой, смоченной 5% раствором спирта и сухой. Животное тестируется после полного высыхания поверхности установки.

Тестируемое животное помещается в ПКЛ на центральную площадку мордочкой к открытому рукаву и в течении 3 минут с использованием двух секундомеров и шаблона для записи регистрируются следующие параметры:

-латентный период первого захода в открытый рукав (ОР) – потенциально стрессогенную зону установки, используется при оценке уровня тревожности животного;

- частота заходов и время пребывания в открытых рукавах (ОР), показатель тревожности;

- число актов свешиваний с края в открытом рукаве (ОР), показатель тревожности;

- число актов стоек в открытом рукаве (ОР), показатель тревожности;

-частота заходов и время пребывания животных в закрытых рукавах (ЗР) – потенциально комфортную зону установки;

-число актов стоек в закрытом рукаве (ЗР) – показатель исследовательской активности;

-число актов короткого груминга (кратковременные (<1 сек.) непродолжительные движения передними лапами, направленные на очистку сенсорных систем (органов зрения, слуха и осязания)) (большее число соответствует большей тревожности);

– число актов длительного груминга (длительные акты (> 3 сек.) движений передними лапами, направленные на очистку/уход за сенсорными системами и поверхностью тела животного) (большее число соответствует меньшей тревожности);

-число дефекаций (большее число соответствует большей тревожности).

-частота пересечений центральной зоны установки – расчётный показатель (сумма заходов в открытый и закрытый рукав), трактуется как показатель двигательной активности;

- время пребывания в центральной зоне установки – расчётный показатель (180 мин – время проведенное в открытых и закрытых рукавах), может трактоваться как показатель скорости принятия решения, помимо этого центральная зона ПКЛ так же является освещенным пространством, и время нахождения в ней может суммироваться со временем в открытых рукавах, отражая степень тревожности.

2.4.3 Условная реакция пассивного избегания

Тест «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) (Воронина Т. А., Островская Р.У., 2005) используется для исследования влияния фармакологических средств на формирование, сохранение и воспроизведение памятного следа в условиях патологий.

Тестовая установка представляет собой две камеры (светлая и темная), соединенные между собой проходом квадратной формы. Светлая камера представляет собой равномерно ярко освещённую площадку (600 люкс) потенциально аверсивную для грызунов. В то время как темная камера представляет собой закрытое пространство без освещения, но с установленным электрическим полом (ООО «Нейроботикс», Россия). Наблюдение за поведением грызунов осуществлялось посредством Web-камеры. Для очистки установки и снижения влияния на поведение посторонних запахов (вследствие пребывания предыдущего животного) перед каждым тестированием установка протирается смоченной водой салфеткой, салфеткой, смоченной 5% раствором спирта и сухой. Животное тестируется после полного высыхания поверхности светлой камеры установки. Для лучшего электрического контакта электродный пол в темной камере хорошо смачивается перед каждым животным

Тестирование проводилось в 3 этапа, продолжительность каждого составляла 3 минуты. На первом этапе проводился процесс обучения животных, необходимый для формирования адаптации к установке и формирование при помощи электрического раздражения негативных ассоциаций при переходе в

темную камеру. Животное помещается в светлую камеру, в результате отсутствия возможности самостоятельно покинуть пределы установки и аверсивности окружающей среды крыса вынуждена перейти в более предпочтительную темную камеру с электрическим полом. После перехода животного в темную камеру, экспериментатор нажатием кнопки активировал электрическую поверхность, в результате чего животное получало болевое раздражение (U=40В, 3 импульса по 0,5 сек). Если в дальнейшем на протяжении тестовой сессии животное повторно возвращалось в темную камеру, оно также получало болевое раздражение.

Через 24 часа осуществлялся этап «первого воспроизведения», этот этап необходим для оценки усвоения животными полученного навыка. Крыса повторно помещается в светлую камеру установки. Однако, грызуны, зашедшие в темную камеру, на данном этапе исключаются из дальнейшего исследования.

Последующее воспроизведение №2 осуществляется через 48 часов после повреждения ЦНС (или иное время, регламентируемое протоколом исследования), в нашем исследовании данный период составлял 7 суток.

В тесте УРПИ фиксируются следующие показатели:

- латентный период первого захода в темный отсек (ТО);

- время, проведенное в темном отсеке (ТО);

- количество заходов в темный отсек (ТО).

Снижение латентного периода захода в темный отсек, увеличение числа заходов и времени проведенного в ТО трактуется как потеря (забывание) животным навыка пассивного избавления от аверсивной среды вследствие травмы ЦНС или по прошествии некоторого времени, и напротив повышение латентного периода захода в ТО (или числа животных, зашедших в ТО) на фоне введения исследуемого соединения может указывать на возможное ноотропное действие исследуемого соединения.

2.4.4 Тест экстраполяционного избавления

Установка для ТЭИ (Воронина Т. А., Островская Р. У., 2005) (Open Science, Россия) представляет собой цилиндрическую емкость (высота 40 см, диаметр 35 см), в которую до определенного уровня наливается прохладная вода (t=18-19°C). В центре емкости вертикально закреплен цилиндр, нижняя часть которого опущена в воду на 2,5 см. На этапе «обучения» животное помещается хвостом вниз во внутренний цилиндр и в течение 3-х минут оно должно решить задачу: поднырнуть под край цилиндра, после чего оно извлекается из установки. Спустя 24 часа, при первом воспроизведении исключаются животные, которые не смогли в течение 3-х минут решить «экстраполяционную задачу». Воспроизведение №2» проводиться через 48 часов после повреждения ЦНС.

В тесте ТЭИ фиксируются следующие показатели:

- латентный период (ЛП) подныривания (время, через которое животное подныривает под край цилиндра, тем самым решая экстраполяционную задачу)

- время иммобилизации (время, в течение которого животное неподвижно и не предпринимает ни активных ни пассивных попыток избавления от аверсивной среды), при равном ЛП подныривания между группами может использоваться при оценке антидепрессантного действия;

- число прыжков (стремительных движений телом вверх), трактуется как попытки активного избавления от аверсивной среды, при равном ЛП подныривания между группами может использоваться при оценке антидепрессантного действия;

Повышение латентного периода подныривания, трактуется как потеря (забывание) животным навыка активного избавления от аверсивной среды вследствие травмы ЦНС или по прошествии некоторого времени, и напротив снижение латентного периода подныривания на фоне введения исследуемого соединения может указывать на возможное ноотропное действие исследуемого соединения.

2.4.5 Тест распознования нового объекта

Тест «Распознавание нового объекта», основан на естественной потребности животных исследовать новые объекты и не требующий наличия внешней мотивации, награды или наказания, используется для оценки когнитивных функций (способности выявлять и сопоставлять с информацией, хранящейся в долговременной памяти) и выполняли в 2 этапа: ознакомление с 2 одинаковыми объектами (А1 и А2) - 3 мин; предъявление нового объекта Б1 и копии (А3) через 60 мин после ознакомления - 3 мин. Эксперимент проводили в домашней клетке (545х395х200 мм)

В тесте Распознавания нового объекта, нами оценивался индекс дискриминации и индекс габитуации.

Индекс дискриминации (ИД) - время, затраченное на изучение нового объекта минус время, затраченное на изучение старого объекта во второй посадке (ИД = tB1 - tA3).

Индекс габитуации (ИГ) - показатель уровня привыкания к старому объекту. Он равен разности между средним временем, затраченным на изучение первых двух одинаковых объектов в фазе ознакомления (А1 и А2) и временем, затраченным на изучение к стараго (А3) объекта в фазе тестирования (ИГ = (tA1+tA2)/2 - tA3) (Balyabin A.V., et al., 2016).

При проведении теста рекомендуется использовать видео-фиксацию проведения тестирования с использованием web-камеры, что дает возможность наблюдать за животным, находясь вне поля его зрения, а также возможность осуществлять дополнительный анализ поведения животного по видеозаписи.

2.4.6 Подвешивание мышей за хвост

Тест подвешивание мышей за хвост (ПМХ) (Миронов А. Н., 2012). Установка для выполнения теста – прямоугольная камера высотой 46 см и шириной 30 см. При проведении теста животное липкой лентой подвешивали за 1/3 хвоста

на высоте 10-15 см от земли. Продолжительность наблюдения составляет 6 минут. Оценивается продолжительность иммобилизации (поведение отчаянья, животное не совершает двигательных движений, просто свисает вниз) в секундах. Учитывается суммарная продолжительность иммобилизации на протяжении 6 минут тестирования. Для предотвращения вскарабкивания мыши по собственному хвосту, предварительно на хвост одевалась трубочка (соломинка) длиной 3 см. Если животное взбирается по хвосту, то оно исключается из эксперимента.

При проведении теста рекомендуется использовать видео-фиксацию проведения тестирования с использованием web-камеры, что дает возможность наблюдать за животным, находясь вне поля его зрения, а также возможность осуществлять дополнительный анализ поведения животного по видеозаписи.

2.4.7 Принудительное плаванье по Porsolt

Тест принудительного плавания по Porsolt (Porsolt R. D., 2001) осуществляется в два этапа. На первые сутки выполняется этап формирования выученной беспомощности. Животное помещается в установку, представляющую собой прозрачный цилиндр, наполненный водой температурой 25 градусов на 15 минут. На первом этапе формируется поведение отчаянья (выученная беспомощность).

На следующем этапе, через 24 часа осуществляется тестирование продолжительностью 5 минут. Животное помещается в цилиндр с водой, как и на этапе обучения. Оценивается продолжительность активного плаванья (животное совершает активные плавательные движения по цилиндру) в секундах, продолжительность пассивного плаванья (животное выполняет плавательные движения необходимые для поддержания головы над уровнем воды) в секундах, продолжительность иммобилизации (животное не совершает двигательных движений) в секундах и количество подныриваний (учитывается количество подныриваний которое животное совершает на протяжении тестирования).

Если исследование проводится на мышах, то этап обучения не выполняется, продолжительность теста и регистрируемые показатели остается прежними.

Увеличение продолжительности активного плаванья, а также попыток активного сопротивления воздействию аверсивных факторов, проявляемое как повышение количества прыжков, на фоне снижения продолжительности иммобилизации по сравнению с группой контрольных животных трактуется как снижение выраженности поведенческого отчаянья. Вышеперечисленное поведение животных, может быть расценено как наличие антидепрессантного эффекта у исследуемых соединений.

2.4.8 Тест конфликтной ситуации вариант Vogel

Одной из наиболее широко применяемых методик формирования конфликтных ситуаций у животных, является модель в варианте Voge (Vogel J. R., 1971). Данная модель характеризуется подавлением питьевого рефлекса в момент потребления воды при помощи болевого раздражения электрическим током (40 вольт и сила тока до 50 миллиампер).

Экспериментальные животные предварительно подвергаются 48 часовой водной депривации, на фоне сохранения постоянного доступа к пище. Спустя 24 часа от начала депривации проводится этап выработки навыка взятия воды из поилки. Для этих целей животное помещается в тестовую установку (клетку с электрическим полом), в которой животное должно адаптироваться, найти поилку и начать пить (не болет 5 секунд). На следующие сутки крысу помещают в установку с электрическим полом на 10 минут и через 3 секунды после начала потребления воды каждое взятие наказывается электро-болевым раздражением. В результате, животное попадает в условия конфликтной ситуации и чтобы удовлетворить питьевую потребность, ему необходимо преодолеть чувство страха перед болевым раздражением.

Сокращение продолжительности времени между первым и вторым наказуемым взятием воды, возрастание количества наказуемых взятий в течении 10 минутного тестирования являются показателем анксиолитической активности.

***Лишение воды на 24 часа** – животное лишается поилки в 8:00 в первые сутки начала депривации, процесс кормления животных остается без изменений; **Обучение** – включает посадку животного в установку и однократное взятие воды в течение 5 секунд; **Введение** – фиксация времени первого и второго подхода к поилке (наказуемого взятия воды) и количество подходов в течение 10 минут.

***Обучение** – помещение животного в установку (в 8:00, спустя 24 часа после начала депривации) и предоставление возможности удовлетворить жажду 5 секунд, после помещение животного в домашнюю клетку и подготовка установки перед посадкой следующего животного (очистка следов пребывания предыдущего животного). После чего депривация продолжается до начала экспериментальной части.

***Введение соединений** осуществляется в 8:00 на третьи сутки эксперимента (внутрижелудочно), в 9:00 начинается тестирование, помещение животного в экспериментальную установку на 10 минут и регистрация исследуемых показателей.

2.4.9 Оценка социального взаимодействия

Тест «социальное взаимодействие» (Toyoda A., 2017): в данном тесте поведение животных исследуется на нейтральной территории при контакте с незнакомым партнером, в качестве которого используются неагрессивные интактные самцы, содержащиеся до проведения данного теста в группе. При тестировании выделяются следующие поведенческие группы: избегающие общения и дружественные.

В клетку габаритами 42х42 помещается металлическая клетка размерами 10х4,5 см и располагается на одном из краев большой клетки.

На первом этапе тестирования животное со статусом «побежденное» (глава 2.5) помещается в установку (42х42) на 3 минуты, с целью ознакомления грызуна с новой обстановкой и исключить смещение фокуса внимания с окружающей среды на новый социальный объект.

На втором этапе перед началом экспериментальной сессии в металлическую клетку (10х4,5) помещалось интактное животное (мышь, самец), затем в установку сажали животное со статусом «побежденное» и наблюдали за продолжительностью его нахождения в зоне 8 см около интакта, фиксировали количество подходов побежденного животного к клетке с «интактным», количество контактов побежденного животного с интактным.

2.4.10 Трехкамерный социальный тест

В трехкамерном социальном тесте (Горина Я. В., и др., 2017) изучали уровень социализации и исследовательскую активность животных. Устройство представляет собой прямоугольный ящик (97 х 97 х 40 см), из поливинилхлорида серого цвета, имеет две боковые и одну центральную камеру с квадратными переходами между отсеками. Тестирование проводилось в 2 этапа продолжительностью в 10 минут. На первом этапе в левую и правую камеры предварительно помещали несоциальные объекты № 1 и № 2 (цилиндры), после чего крысу помещали в центральную камеру и фиксировали продолжительность нахождения в левой и правой камере (тестирование ограничивалось 10 минутами).

На втором этапе в левую камеру установки предварительно помещали социальный объект №1 (крыса, самец, в возрасте 8 мес, находящаяся в цилиндрической клетке с решетками), а в правую камеру несоциальный объект №2 (цилиндр), после чего животное помещалось в центральную зону и в течении 10 минутного тестирования оценивали продолжительность нахождения животного в левой и правой камере.

2.4.11 Адгезивный тест

Адгезивный тест использовался для оценки сенсорно-моторной функции животных, а также сохранности мелкой моторики передних лап. Для выполнения тестирования на ладонную поверхность передних лап грызунов помещался липкий пластырь габаритами 5х5 мм. После выполнения данной манипуляции, грызун помещается в пустую пластиковую клетку с прозрачными стенками для наблюдения и подстилом на дне клетки. Продолжительность наблюдения за животными составляла 3 минуты. В качестве основных показателей фиксировался латентный период обнаружение стикера и латентный период удаления стикера с ладонной поверхности передних лап. Представленные показатели отдельно фиксировались для правой и левой лапы грызуна (Bouet., et al., 2009).

2.4.12 Rotarod тест

Оценка нарушения координации животных проводилась с помощью комплекса «Ротарод» (ООО «Нейроботикс», Россия). Установка представляет собой горизонтально расположенный стержень диаметром – 70 мм. Стержень разеделен на равные учакстки шириной по 70 мм вертикальными пластиковыми дисками диаметром 370 мм. Дополнительно в состав установки входит программное обеспечение позволяющее считывать информацию с датчиков регистрируемых продолжительность удержания грызуна на стержне. В качестве постоянной скорости вращения было выбрано значение 20 оборотов в минуту.

В качестве основных регистрируемых параметров использовался латентный период первого падения и суммарная продолжительность удержания на вращающемся стержне животных за 3 попытки сумарно (Bohlen M., et al., 2009).

2.5. Оценка терапевтического эффекта адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на фоне социальной депрессии

Жизнедеятельность человека и животных основывается на реализации врожденных и приобретенных поведенческих программ, которые способствуют

индивидуальной адаптации в социальной группе в условиях которой пребывает особь (Лебедев А. А., 2002).

Подобные исследования имеют важное прикладное значение и позволяют оценить степень влияния утраты межличностных отношений в клинической картине множества психоневрологических заболеваний (Жукова О. А., и др., 2011).

Изучение различных экспериментальных патологий эмоциональной сферы невозможно без исследования внутривидового поведения животных и требует адекватного подбора поведенческих моделей максимально приближенных к клиническим условиям.

Постепенное преобладание интеллектуальных нагрузок над физическими, приводит к росту эмоционального напряжения в современном обществе, связанного с растущим количеством множества меняющихся жизненных ситуаций, которые достаточно часто могут принимать конфликтные формы. Длительное пребывание в состоянии эмоционального напряжения является причиной формирования «социального» и «психоэмоционального» стресса, который в свою очередь охватывает все уровни организации организма (молекулярный, клеточный, организменный), что приводит к формированию стресс-опосредованных заболеваний (Lebedev A. A., et al., 2017).

В лабораторных условиях агрессия животных является частью установления иерархии доминирования (Lidster K., et al., 2019), но исключительно в сформировавшейся экосистеме на территории домашней клетки. Проявление агрессии характерно для всех штаммов лабораторных мышей (Theil J. H., et al., 2020). При этом ежедневная или достаточно частая очистка клеток приводит к повышению уровня агрессии, так как чистка клетки приводит к стиранию запахов и гормонов из желёз, и временному нарушению социальной иерархии следствием которой является социальная нестабильность в группе (Paulin Jirkof., et al., 2020). Помещение двух животных из разных клеток приводит к формированию нестабильности социальной группы, что вызывает повышение уровня агрессии.

В связи с тем, что лабораторные животные не могут самостоятельно покидать домашнюю клетку, именно акты агрессии помогают сформировать иерархию в социуме. Следствием агрессивного поведения лабораторных мышей является формирование острого стресса, а при длительном стрессировании формирование депрессивного состояния, которое может использоваться как экспериментальная модель социальной депрессии (Lidster K., et al., 2019).

Социальный стресс – это комплекс физиологических и эмоциональных реакций, возникающих в результате избыточного воздействия на организм различных социальных факторов.

Используемая модель «Социального стресса» была разработана Н. Н. Кудрявцевой (Ясенявская А. Л., Хамидуллаевна М. В., 2017). Эта модель позволяет моделировать депрессию на мышах, формируемую на фоне длительного агностического воздействия.

В эксперименте использовались специальные клетки, которые были разделены пополам прозрачным барьером со сквозными отверстиями, которые позволяли мышам видеть, слышать и чувствовать запахи друг друга, но предотвращали физический контакт между особями.

Предварительно, перед началом моделирования депрессивного состояния, осуществлялся отбор животных «агрессоров» – победителей и «побеждённых» – стабильно терпящих поражение. Для этого, одно животное с статусом «побеждённое» помещалось в домашнюю клетку с животными с предварительным статусом «агрессоры» и оценивался характер их взаимодействия. В группу «агрессоры» выбирались те животные, которые активно защищали свою территорию, проявляли агрессивные действия в отношении «чужака», таковых оказалось 30 из 75 животных. В группу «побеждённые» выбирались животные, которые после помещения в чужую клетку пытались избежать схватки и не проявляли активных попыток нападения на особей-хозяев, таковых оказалось около 30 из 32.

После выявления победителя и побеждённого, с целью обосноваться в новой среде, животное «агрессор» на 3-е суток перемещалось в свою часть клетки, разделённой барьером, где заранее были подготовлены опилки и материалы необходимые для строительства домика и обогащения среды. А животное со статусом «жертвы» возвращались обратно в домашнюю клетку.

Спустя 3-е суток, побеждённое животное перемещалось в свою часть клетки разделённой перегородкой.

В последующем ежедневно в первой половине дня с 9:00-11:00, на протяжении 10 суток, побеждённое животное перемещали в новую клетку к неизвестному ему ранее агрессору и убирали барьер разделяющий их друг от друга, провоцируя таким образом агрессора защищать собственную территорию от новичка и вступать в физические конфронтации с ним.

Если физический контакт (драка) между агрессором и жертвой продолжались непрерывно 3 минуты, то между ними обратно устанавливали преграду, в противном случае продолжительность столкновений длилась 10 минут.

На 4-5-е сутки ежедневных столкновений, животные со статусом «жертвы» в большей части прекращали оказывать должное сопротивление на акты агрессии со стороны победителя, в результате чего продолжительность конфронтаций между мышами сокращали до 30 секунд, с целью предотвращения травмирования животных. Животные со статусом «победителя» напротив, спустя 5 суток становились более агрессивными и нападения на вновь прибывшее животное осуществляли сразу, как только устранялась перегородка между ними, а также начинали преследовать жертву вдоль барьера после его обратной установки.

Таким образом, на 10 сутки у самцов с постоянно повторяющимся опытом социальных поражений развивалось тревожно-депрессивное состояние.

Для оценки выраженности депрессивного состояния у животных, проводилась батарея поведенческих тестов: поведенческое отчаянье оценивали в тестах «принудительное плаванье по Porsolt» и «подвешивание за хвост» (Steru L.,

et al., 1985) уровень социализации животных оценивался в тесте «социального взаимодействия» (Liu X., et al., 2018) уровень тревожности оценивали в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ); (Воронина Т. А., 2012) двигательную и исследовательскую активности оценивали в тесте «Открытое поле» (Миронов А.Н., 2012).

После подтверждения наличия симптомов развившегося депрессивного состояния, начинался этап 10 дневного лечения, которое проводилось на фоне продолжения ежедневных социальных конфронтаций. При этом за 60 минут до начала манипуляций (подсаживание к новому агрессору) (8:00), в зависимости от группы (n=10), животные получали соответствующие вещества: животные групп «Интакт» и «Депрессия+физ.р-р» – 0,9% раствор NaCl, «Депрессия+ВКМ-22» – ВКМ-22 в дозе 14 мг/кг, «Депрессия»+ТIМ-2 в дозе 11 мг/кг, «Депрессия+Имипрамин» – Имипрамин в дозе 15 мг/кг. Доза исследуемых соединений была выбрана, как наиболее эффективная по результатам предыдущих исследований, доза препарата сравнения выбрана по литературным данным (Ramirez K., Sheridan J. F., 2016).

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

Оценка выраженности депрессивного состояния:

Сформировавшееся на фоне депрессии поведенческое отчаянье возможно оценить в таких тестах как принудительное плаванье по Porsolt и подвешивание за хвост, где выраженность иммобилизации трактуется как поведение отчаянья интерпретирующийся как состояние безысходности в период депрессии у человека (Alonso-Castro A. J., et al., 2019).

Уровень тревожности возможно оценить в тесте ПКЛ, животные с повышенным уровнем тревоги как правило длительное время проводят в закрытых рукавах установки или же длительное время проводят в центре ПКЛ, так как на

фоне тревоги возможна заторможенность животных и трудность принятия решения. Депрессивное состояние как правило включает в себя многогранный набор психических и соматических расстройств, одним из наиболее частых сопутствующих состояний является повышение уровня тревоги (Horwitz A. V., 2010).

На фоне стресса возможно снижение двигательной и исследовательской активности. Для этого необходимо провести тест открытое поле. Тревожное животное будет в большей степени пересекать пристеночные квадраты, будет совершать больше актов кратковременного груминга, меньше исследовать отверстия, совершать меньшее количество поведенческих актов.

При проведении комплекса тестов предполагается выявить выраженные признаки тревожно-депрессивного состояния у экспериментальных животных (Рисунок 1).

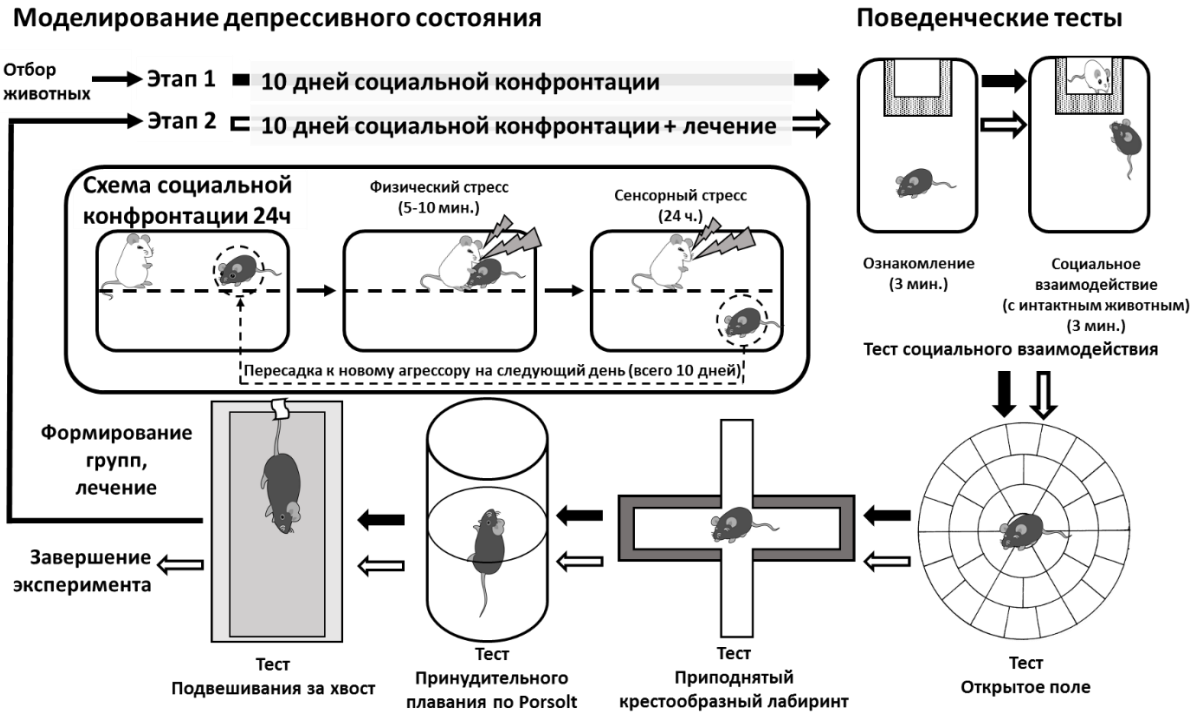


Рисунок 1. Дизайн моделирования социальной депрессии

2.6 Оценка терапевтического эффекта адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях экспериментальной ишемии головного мозга

2.6.1 Оценка терапевтического эффекта адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях экспериментальной ишемии головного мозга

Нарушения мозгового кровообращения и сопутствующие ей когнитивные и моторные нарушения становятся частой причиной утраты трудоспособности и несут бремя экономических проблем для государства (Astuti P., Kusnanto K., Dwi Novitasari F., 2020; Kuriakose D., Xiao Z., 2020; Young M. J., et al., 2020).

Для устранения последствий нарушения мозгового кровообращения используют различные подходы, направленные на замедление процессов повреждения тканей мозга (Jiao Y., et al., 2020), направленные на морфологическое (Spellicy S. E., et al., 2021), метаболистическое и функциональное восстановление нейронов (Grefkes C., Fink G. F., 2020). Терапия подобных состояний проводится препаратами различных групп, в частности: церебральными вазодилататорами, антигипоксантами (Lance H., et al., 2020), антиоксидантами (Pineda-Ramírez N., et al., 2020), антиагрегантами (Salvatore S., et al., 2020) и др.

Производным альфа-пирролидона характерен широкий спектр фармакологической активности: ноотропной (Suliman N. A., et al., 2016), антидепрессантной (Malykh A. G., Sadaie M. R., 2010), противосудорожной (Winblad. B., 2005) и анксиолитической (Bhattacharya S. K., et al., 1993). Вышеперечисленные свойства могут иметь важное значение при коррекции отдаленных последствий НМК и обуславливают целесообразность исследований данной группы препаратов.

Церебропротекторную активность изучали на животных, которым моделировали необратимую окклюзию-общих сонных артерий. Анестезию осуществляли путем внутрибрюшинной инъекции комбинации золетила и

ксилазила (20 и 8 мг/кг соотв.). Спустя 24 часа, после оперативных мероприятий проводился процесс оценки уровня неврологического дефицита. Из исследования исключались животные, проявляющие выраженный неврологический дефицит по шкале Combs and D'Alecy. Исследуемое соединение и референтный препарат сравнения цитиколин вводили перорально начиная с первых суток после моделирования на протяжении 7 дней.

После процесса оценки неврологического дефицита, крысы были распределены на группы по 10 особей в каждой.

С целью оценки моторных и когнитивных нарушений поведение животных оценивалось в тесте открытое поле (ОП), Ротарод, адгезивный тест и распознавание нового объекта (РНО).

В тесте ОП (установка производства НПК Открытая Наука, Россия) определяли показатели двигательной и исследовательской активности: число пересечённых квадратов за 3 минуты в установке и сумма актов вертикальной активности (свободных и пристеночных стоек и число обследованных отверстий-норок) (Воронина Т.А., Островская Р.У., 2005). В тесте Ротарод (установка производства ООО «Нейроботикс», Россия) фиксировали двигательно-координационные нарушения у животных (фиксировали время удержания на вращающемся стержне, 25 об/мин). В адгезивном тесте оценивали сенсорно-моторные нарушения (чувствительность и мелкую моторику, т.е. способность животных к обнаружению и удалению инородного предмета (стикера), закрепленного на ладонной (волярной) поверхности передних лап) (Bouet V., et al., 2009). В тесте «РНО», который проводили в две фазы («ознакомление» – 2 одинаковых объекта и «тестирование» – 1 старый и 1 новый объект) оценивали индекс дискриминации (время, затраченное на изучение нового объекта минус время, затраченное на изучение старого объекта) (Leger M., et al., 2013). Эксперимент проводили в домашней клетке (545х395х200 мм), продолжительность этапов составляла 3 минуты с перерывом 60 минут.

2.6.2 Оценка терапевтического влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях ХНМК

Цереброваскулярные заболевания и тревожно-депрессивные расстройства часто сопутствуют друг другу (Caeiro L., et al., 2006; Robinson R. G., Spalletta G., 2010; Albert P. R., 2018; Wang Q., et al., 2019; Medeiros G. C., et al., 2020). В последнее время появляется все больше доказательств взаимосвязи этих патологических процессов, к примеру: депрессивное расстройство может стать причиной развития сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта и транзиторных ишемических атак, а цереброваскулярные нарушения сопряжены с повышенным риском развития депрессии. Постинсультная депрессия наиболее часто развивается в течение первого месяца после дебюта сосудистой катастрофы, но негативная тенденция (развития депрессии) сохраняется в течении нескольких лет (Göthe F., et al., 2012). Её возникновение осложняет лечение основного заболевания, снижает его эффективность, выступает одним из основных факторов повышения риска смерти (Robinson R. G., Spalletta G., 2010). За последние 20 лет был достигнут значительный прогресс в выявлении и лечении депрессии развившейся после инсульта, а включение антидепрессантов в фармакотерапевтическую реабилитацию таких пациентов, вероятно, будет наблюдаться чаще. Добавление к терапии антидепрессантов положительно сказывается на динамике восстановления, а также снижает уровень смертности пациентов, перенесших инсульт (Narushima K., Robinson R. G., 2003).

Наиболее назначаемой группой антидепрессантов на данный момент являются селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (Guo. S., et al., 2020), однако, помимо преимуществ они обладают и широким спектром недостатков. Так, приём препаратов этой группы часто сопровождается повышением уровня тревожности (Bruggeman C., et al., 2021), потерей аппетита, головной болью, перепадами настроения, спутанностью сознания, дискоординацией, галлюцинациями, сексуальная дисфункция возникает у 75% пациентов, принимающих препараты из группы СИОЗС (Rosen R. C., Lane R. M.,

Menza M., 1999). Важное значение имеет отсутствие возможности комбинированного применения препаратов из группы СИОЗС с серотонинергическими, ингибиторами МАО, фуразолидоном, прокарбазином, триптофаном (Ferguson J. M., 2001). При одновременном приёме, флуоксетин угнетает метаболизм диазепама и метопролола, что приводит к увеличению их концентрации в сыворотке крови, усилению их терапевтического и побочного действия. Эффект варфарина усиливается флуоксетином.

Все это подчеркивает необходимость в улучшении качества лечения депрессивных расстройств, поиска и разработки следующего поколения антидепрессантов, которые будут обладать лучшей переносимостью и безопасностью.

Применение противотревожных препаратов (производных бензодиазепина) отрицательно влияет на когнитивную функцию, особенно у пожилых людей (Ettcheto M., et al., 2019). Для некоторых производных ГАМК (фенибут) отмечено положительное влияние на когнитивную функцию у пациентов с постинсультными когнитивными нарушениями.

Производные альфа-пирролидона нашли широкое применение для лечения когнитивных нарушений, возникающих вследствие различных повреждений ЦНС (ишемии, травмы и нейродегенеративные заболевания) (Берестовицкая В. М., и др., 2016).

Производные адамантана блокируют глутаматные NMDA рецепторы, что приводит к опосредованному усилению ГАМК-ергического участия в функционировании ЦНС. Препараты содержащие адамантановую структуру широко применяются при лечении заболеваний, связанных со снижением выработки дофамина (астения, синдром хронической усталости, болезнь Паркинсона), судорожным синдромом, депрессивным и/или тревожным состоянием. В настоящее время в клинической практике применяется около 20 производных адамантана (Литвин Е. А., Колыванов Г. Б., Жердев В. П., 2012).

Исследуемое в данной работе новое производное альфа пирролидона (соединение ТIМ-2) в предыдущих экспериментах показало наличие широкого спектра психотропной активности: анксиолитическое, антидепрессантное и ноотропное действие на интактных животных. При введении блокаторов хлорного канала ГАМК-А рецепторов (коразола или пикротоксина), соединение ТIМ-2 оказывало противосудорожное действие, что указывает на вероятный ГАМК-ергический механизм его активности и перспективность дальнейшего исследования антидепрессантного и анксиолитического действия, характерного для препаратов влияющих на систему ГАМК (Тюренков И. Н., и др., 2011).

Дизайн исследования представлен ниже (Рисунок 2А). Исследование проведено на животных, которым под общей анестезией (комбинация золетила 20 мг/кг и ксилазила и 8 мг/кг, внутрибрюшинно) моделировали необратимую окклюзию общих сонных артерий (Волотова Е. В., и др., 2016). Группе ложнооперированных животных (ЛО) воспроизводили все этапы операции без ключевого повреждающего фактора. Через 40 дней, после операции у всех животных оценивали уровни двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, координации и мелкой моторики после чего их распределяли в равноценные группы (n=10):

1. «ЛО» – ложнооперированные животные;
2. «ХНМК» – животные с ХНМК без лечения (физ.р-р, 0,5 мл/100 г);
3. «ХНМК+ВКМ-22» (ВКМ-22, 14 мг/кг);
4. «ХНМК+ТIМ-2» (ТIМ-2, 11 мг/кг);
5. «ХНМК+Флуоксетин» (Флуоксетин, 20 мг/кг);
6. «ХНМК+Фенибут» (Фенибут, 25 мг/кг);

Исследуемые соединения ТIМ-2, ВКМ-22 и препараты сравнения фенибут и флуоксетин вводили 1 раз в сутки, перорально в течении 14 дней. Доза ТIМ-2 (11 мг/кг) была выбрана, как наиболее активная по результатам предыдущих исследований, дозы флуоксетина (20 мг/кг) и фенибута (25 мг/кг) соответствовали общепринятым для подобных исследований.

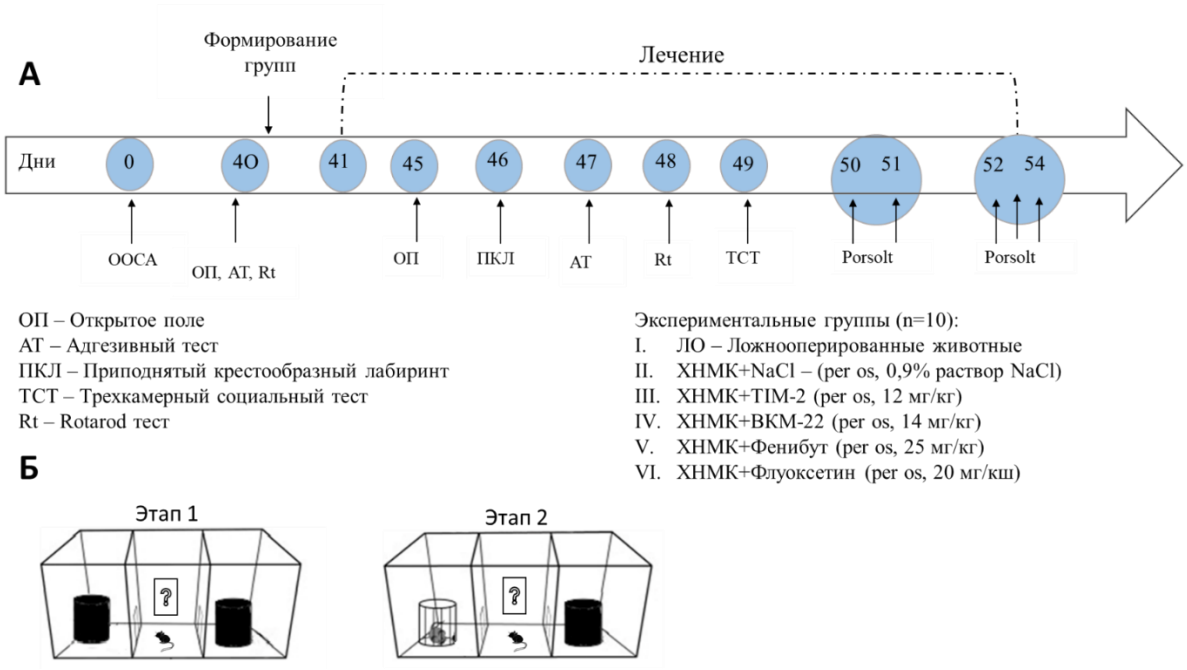


Рисунок 2. А – Дизайн исследования, Б – трехкамерный социальный тест

В тесте Открытое поле (установка производства НПК Открытая Наука, Россия) определяли показатели двигательной и исследовательской активности: число пересечённых квадратов за 3 минуты в установке и сумма актов вертикальной активности (свободных и пристеночных стоек и число обследованных отверстий-норок, ОИА) (Миронов А. Н., 2012).

В тесте Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) (установка производства НПК Открытая Наука, Россия) оценивали выраженность тревожного состояния животных в условиях переменной стрессогенности, фиксировали продолжительность нахождения в открытых и закрытых рукавах установки (Миронов А. Н., 2012).

В адгезивном тесте оценивали сенсорно-моторные нарушения (чувствительность и мелкую моторику, т.е. способность к обнаружению и удалению инородного предмета (стикера), закрепленного на ладонной (волярной) поверхности передних лап) (Куркин Д. В., и др., 2019).

В тесте Ротарод (установка производства ООО «Нейроботикс», Россия) фиксировали двигательно-координационные нарушения (фиксировали время удержания на вращающемся стержне, 25 об/мин).

В трехкамерном социальном тесте (Горина Я. В., и др., 2017) изучали уровень социализации и исследовательскую активность животных. Устройство представляет собой прямоугольный ящик (97 х 97 х 40 см), из поливинилхлорида серого цвета, имеет две боковые и одну центральную камеру с квадратными переходами между отсеками (Рисунок 2Б). Тестирование проводилось в 2 этапа продолжительностью в 10 минут. На первом этапе в левую и правую камеры предварительно помещали несоциальные объекты № 1 и № 2 (цилиндры), после чего крысу помещали в центральную камеру и фиксировали продолжительность нахождения в левой и правой камере (тестирование ограничивалось 10 минутами).

На втором этапе в левую камеру установки предварительно помещали социальный объект №1 (крыса, самец, в возрасте 8 мес, находящаяся в цилиндрической клетке с решетками), а в правую камеру несоциальный объект №2 (цилиндр), после чего животное помещалось в центральную зону и в течении 10 минутного тестирования оценивали продолжительность нахождения животного в левой и правой камере.

В тесте принудительного плавания по Porsolt (установка производства НПК Открытая Наука, Россия) оценивали выраженность поведенческого отчаянья животных, фиксировали продолжительность состояния иммобилизации в течении 5 минут тестирования (Porsolt R. D., 1978).

В тесте конфликтной ситуации Vogel оценивали выбор приоритетов у животных в условиях конфликта мотивации между чувством жажды и страха болевого воздействия, фиксировали количество наказуемых взятий воды в течении 10 минут тестирования (Vogel J. R., 1971).

2.7. Изучение возможного взаимодействия с нейромедиаторными системами головного мозга

ГАМК-ергическая система

Методы изучения противосудорожного действия при введении пикротоксина и коразола (Воронина Т.А., Островская Р. У., 2005).

Методика основывается на фиксировании показателей возникновения судорог на фоне предварительного введения конвульсанта. К основным регистрируемым показателям относится фиксация латентного периода наступления судорог характеризующееся как продолжительность времени затрачиваемая от начала введения конвульсанта до наступления клонических или тонических судорог и их общая продолжительность (в секундах) за 60 минут наблюдения за животным. В процентном соотношении от общего числа животных оценивается количество летальных случаев.

Исследуемые соединения (в эквивалентном объеме) вводились перорально за 60 минут до тестирования (введения конвульсанта) в соответствии с экспериментальной группой животных.

После введения соответствующего конвульсанта мыши помещались в плексиглазовые контейнеры размером 10х12х15 см. с отверстиями в стенках и крышке для свободного доступа кислорода и поддержания постоянной комнатной температуры.

Пикротоксин и коразол в дозе, вызывающей судороги у 97% животных из группы контроля (2,5 мг/кг и 90 мг/кг соотв.) вводили подкожно в область шейного отдела спины. О вероятном наличии противосудорожной активности соединений исследуемого ряда может свидетельствовать увеличение латентного периода наступления судорог (предупреждение развития судорог) или снижение продолжительности клонических или тонических судорог.

Серотонинергическая система

Вероятное взаимодействие исследуемых соединений с серотонинергиеской системой изучается посредством позитивного или негативного влияния на 5-окситриптофановый гиперкинез (Воронина Т. А., 2008).

К основным регистрируемым показателям относится подсчет количества специфических гиперкинетических движений у мышей (встряхивания головой) в динамике, опосредованных предварительным внутрибрюшинным введением

предшественника серотонина 5-окситриптофана в дозе 300 мг/кг спустя 60 минут после введения исследуемых веществ.

В качестве критерия оценки влияния исследуемых веществ на серотонинергическую нейропередачу используется изменение количества характерных гиперкинетических движений. Мышей помещали в плексигласовые контейнеры и в течении 60 минут осуществляли визуальное наблюдение за изменениями в их поведении (число встряхиваний головой за 1 минуту с интервалами в 10 минут).

Дофаминергическая система

Для изучения влияния исследуемых веществ на дофамин-ергическую систему была использована методика каталепсии, опосредованной введением галоперидола в дозе 1 мг/кг (Воронина Т. А., Островская Р. У., 2005). Галоперидол является типичным нейролептиком, блокатором дофаминовых рецепторов, обладающим центральным альфа- адреноблокирующим действием, нарушающим процесс обратного захвата и депонирования норадреналина.

Исследование проводилось на самцах лабораторных мышей, основной задачей являлось оценить способность и продолжительность сохранения животным искусственно заданной позиции. Для этого передние лапы мыши помещали на горизонтальную проволочную перекладину (поза «лектора»), которая располагалась на высоте 4 см, попытки предать животному необходимую позу не продолжались более 1 минуты, а максимальная продолжительность наблюдения составляла 2 минуты. Продолжительность каталепсии измеряли в секундах через определенные интервалы времени (30, 60, 120 и 180 минут) после введения галоперидола, дополнительно оценивался процент животных с каталепсией в группе и интенсивность каталепсии, интерпретируемая в баллах по методу Morpurgo: животное усаживали на задние лапки так, чтобы, опираясь передней лапкой о ступеньку, крыса держала бы другую лапу без опоры. Если мышь сохраняла такую позу в течение 10 с. при высоте ступеньки 4 см., засчитывали 1

балл. Поочередно помещали левую и правую лапу сначала на нижнюю, затем на верхнюю ступеньки.

Изучение влияния исследуемых соединений на степень вертикализации у мышей вызванной предварительным введением агониста постсинаптических дофаминовых рецепторов – апоморфина (Миронов А. Н., 2012).

Исследуемые соединение вводили перорально за 60 минут до подкожного введения апоморфина (шейный отдел спины) в дозе 3 мг/кг. После чего мышь помещали в цилиндрическую камеру с плексигласовым дном, изготовленные из проволоки толщиной 2 мм при расстоянии между прутьями 1 см. В качестве основного показателя регистрируется стереотипное поведение каждые 2 минуты в течении часа (принюхивания, грызения, лизания по принятой трехбалльной шкале оценки поведенческих феноменов, согласно которой отдельным движением (в т.ч. непостоянному принюхиванию) приписывается оценка в 1 балл, непродолжительной интенсивной стереотипии (в т.ч. лизание, грызение) – 2 балла, постоянной интенсивной стереотипии – 3 балла). Для феномена вертикализации число баллов соответствует числу лапок на сетке. По окончанию экспериментальной сессии подсчитывают суммарный балл стереотипии для каждого животного за все время наблюдения.

Холинергическая система

Изучение возможного взаимодействия соединения с М-холинергической системой оценивалось по влиянию на ареколиновый тремор (Миронов А.Н., 2012). Ареколин проявляет М-холиномиметическое действие. Критерием влияния вещества на холинергическую систему ЦНС являлось изменение продолжительности тремора. Животным через 60 минут после введения изучаемого соединения вводился подкожно ареколин в дозе 25 мг/кг. Далее животных помещали в прозрачные плексигласовые контейнеры, разделенные на 6 индивидуальных ячеек (10х12х15 см), закрывающихся крышкой, с отверстиями в стенках при постоянной комнатной температуре и стандартном освещении.

Регистрировали показатели: латентный период от момента введения ареколина до возникновения тремора и общая его продолжительность.

Изучения возможного взаимодействия соединения с Н-холинергической системой оценивали по влиянию соединений на никотиновый тремор (Миронов А. Н., 2012). Экспериментальное исследование осуществлялось на самцах мышей, оценивалось влияние исследуемых соединений на продолжительность тремора, опосредованного введением никотина в дозе 0,2 мг/кг. В качестве основных регистрируемых показателей фиксировали латентный период наступления тремора и изменение его общей продолжительности. Исследуемые соединения вводились перорально за 60 минут до введения никотина. После чего мыши помещались в плексигласовые контейнеры со сквозными отверстиями на стенках и крышке и проводилось наблюдение за их поведением на протяжении 60 минут.

2.8 Оценка острой токсичности адамантновых производных ГАМК и альфа-пирролидона

Оценку острой токсичности проводили в соотвествии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств (Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под ред. Хабриева, 2005; Воронина Т.А., 2000, 2012; Островская, Р.У., 2012). Исследование проводилось на 84 самках мышей массой от 25 до 30 г. Введение исследуемых соединений осуществлялось однократно, перорально. После введения соединений за животными осуществлялось непрерывное 8 часовое наблюдение. В последующем наблюдение осуществлялось каждые 24 часа, 14 суток подряд.

На этапе непрерывного наблюдения с целью оценки состояния животных учитывались следующие показатели:

1. Состояние шёрстного покрова животных (ухоженность и плотность)
2. Состояние слизистых оболочек (окраска, наличие выделений, наличие отечности)

3. Изменения в подвижности
4. Оценка реакции животных на внешние раздражители (громкий звук, прикосновения к телу, яркий свет)
5. Возникновение судорог (тонических и клинических)
6. Возникновение тремора
7. Оценка изменений со стороны вегетососудистой системы (уринации, дефекации, саливации, изменение окраса кожных покровов)

На заключительном этапе исследования, после 14 суток наблюдения проводился подсчёт процента погибших и выживших животных в каждой экспериментальной группе. Расчёт показателя LD50 осуществлялся при помощи пробит-анализа выживаемости.

2.8 Статистическая обработка результатов исследования

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

ГЛАВА 3. СКРИНИНГ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СРЕДИ АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА

3.1 Изучение психотропной активности адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в различных дозах

На скрининговом этапе исследования была проведена оценка влияния исследуемых соединений при однократном пероральном введении в эквимолярных дозах (в соотношении 1/40, 1/20, 1/10 и 1/5 1/40 от Mr) на двигательную активность, тревогу и формирование памятного следа с использованием тестов Открытое поле, Приподнятый крестообразный лабиринт, тест Условная реакция пассивного избегания и Тест экстраполяционного избавления.

3.1.1 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Открытое поле

В тесте Открытое поле (Таблица 7) среди адамантановых производных ГАМК повышение двигательной активности, относительно контрольной группы наблюдалось после введения производных ГАМК с адамантильным заместителем в бета-положении – S-изомер (ANR-04) и в гамма-положении – рацемат (ВКМ-22) в дозе 14 мг/кг, так же в данных группах отмечалось большее число пересеченных центральных секторов, что указывает о снижении тревоги экспериментальных животных. При этом наиболее высокий показатель исследовательской активности наблюдался только в группе, получившей соединение ВКМ-22 в дозе 14 мг/кг. При анализе зависимости эффекта от дозы для данных соединений в тесте Открытое поле было отмечено их дозозависимое влияние на двигательную и исследовательскую активность с максимальным стимулирующим эффектом в дозе 14 мг/кг, который при дальнейшем повышении дозы сменялся угнетающим действием в дозе 55 мг/кг.

Среди адамантановых производных альфа-пирролидона выделяются близкие по структуре соединения 1-(3-Гидроксиадамантан-1-ил)-пирролидин-2-он (IE-1) и 1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он (TIM-2), введение которых

способствовало повышению двигательной и исследовательской активности в тесте Открытое поле с максимально выраженным эффектом в дозе соответственно 12 и 11 мг/кг. Также у данных соединений было отмечено большее число пересеченных центральных секторов установки, что может указывать на наличие противотревожной активности данных соединений. При этом у соединения TIM-2 в дозе 44 мг/кг отмечалось незначительное угнетающее действие. Для соединения ANR-10 было отмечено стимулирующее влияние только в дозе 22 мг/кг, а для соединения TIM-3 по всех исследуемых дозах (5, 10, 20 и 40 мг/кг) было отмечено угнетающее влияние на двигательную активность.

Таблица 7. Оценка двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в тесте Открытое поле

Исследуемые соединения	Дозы мг/кг	Двигательная активность (квадраты)	Ориентировочно-исследовательская активность (ОИА)	Количество пересеченных центральных секторов	Короткий груминг (кол-во актов)	Продолжительный груминг (кол-во актов)	Уринации	Дефекации
Контроль	-	64,3±2,4	15,6±2,1	9,8±3,3	0,6±0,26	1±0,2	2±0,2	3±1
Адамантановые производные ГАМК								
ANR-03	7	62±5	17,7 ± 1,8	5,8±0,5	1,3±0,33	1,3±0,33	0,7±0,3	2,7±1,7
	14	62,3±16,9	14,3 ± 2	9,7±0,2	1,3±0,6	1,3±0,3	0,7±0,6	0,7±0,6
	28	69,7±11,7	14±4,6	14,1±1,2	1,3±0,6	0±0	0,7±0,6	2,3±1,4
	56	65,7±4,6	13,3±1,9	18±3,6	0±0	0±0	0±0	0±0
ANR-04	7	59,5±3,5	13,7±3,4	18±4,1	0,7±0,6	1,3±0,2	0,7±0,3	3,7±2,7
	14	70,5±12,5	8,7 ± 1,2	29,2±3,6*	4,7±1,4	1,3±0,6	0,7±0,6	0±0
	28	62,3±5,7	7,3±2,3	15,7±0,9	1,7±1,6	2±0	0,7±0,2	0,7±0,6
	56	33 ± 10,7	2±0,6	9±0,3	0±0	2±0	0,7±0,2	0±0
ВКМ-22	7	63,5±5,5	16,5 ± 2,5	21,5±2,5*	0,5±0,5	0±0	0,5±0,1	2±1
	14	76,3±9,9	26,5 ± 3,5*	30±6,2*	1±0,2	0,5±0,1	0±0	1,5±0,5
	28	66,3±13,5	22 ± 2,3*	28±2*	1±0,3	2±1	1±0,3	2±1
	56	43,3±16,2	16,7 ± 3,5	15±2,1	1,5±0,5	1,5±0,3	2±0,3	2,5±0,5
Адамантановые производные альфа-пирролидона								
ANR-10	6	55±5,2	18±1,7	9±1,6	0,5±0,2	0,6±0,2	1±0	4±0
	11	68±9,2	22,5±3,8	7,5±1,5	0±0	0,5±0,1	0,5±0,2	3±1
	22	72,8±20	26±7,5*	18,5±2,5*	0±0	1±0,2	1±0	2±1
	44	50,1±15,3	16±1,7	6,5±1,5	0±0	1±0	0,5±0,1	1±0
IE-1	6	60±15,6	20±3	34±1,1*	0±0	3±1	0±0	2±0,3
	12	77±4	24,5±1,5*	33±1,6*	0±0	2±1	0±0	3±2
	24	74,3±12,5	24,5±7,5*	36±1,2*	0±0	0±0	2±03	3±0,4
	48	73,5±6,5	16,5±4,5	30±2*	1±0,3	0±0	2±0,4	2±1

ТІМ-2	6	61±6	23±1,1*	18±2,9*	0±0	0±0	0±0	0±0
	11	73,7 ± 5,8	31±3*	21±1,2*	0±0	0±0	0±0	0±0
	22	65,4 ± 14,4	24,5±12,5*	30±2*	2±0,2	3±1	0±0	3±1
	44	42,5 ± 5,5	7±1	16±1,3	2±1	3±1	2±0,3	3±0,2
ТІМ-3	5	45,3±8,9	9,3±1,8	9±1,9	0±0	0±0	1±0,2	3±1
	10	44±12,1	12±1,2	18±3,3*	0±0	0±0	2±1	2±0,2
	20	40,3±9,7	6±0,6	22,5±3,5*	0±0	0±0	2±0,3	3±1
	40	32±2,9	3±0,6	12±2,7	0±0	0±0	1±0,1	2±0,2

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); n–число животных в груп*

Таким образом, по результатам теста Открытое поле было отмечено адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) и 2 адамантановых производных альфа-пирролидона (IE-1 и TIM-2), которые при однократном пероральном введении повышали двигательную и исследовательскую активность экспериментальных животных, а также проявляли признаки антифобической активности. На следующем этапе была произведена оценка анксиолитической активности всех исследуемых соединений в условиях с переменной стрессогенностью в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт.

3.1.2 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт

В тесте Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) (Таблица 8) среди адамантановых производных ГАМК повышение времени нахождения в открытых рукавах установки ПКЛ, относительно контрольной группы наблюдалось после введения производного ГАМК с адамантильным заместителем в бета-положении – S-изомер (ANR-04) в дозах 28 и 56 мг/кг и производного ГАМК с адамантильным заместителем в гамма-положении – рацемат (ВКМ-22) в дозе 14 и 28 мг/кг. Так же в данных группах отмечалось большее число актов стоек и свешиваний с края открытого рукава относительно контрольной группы, что подтверждает наличие анксиолитической активности у данных соединений.

Среди адамантановых производных альфа-пирролидона соединения IE-1 и TIM-2 сопоставимо способствовали повышению времени нахождения в открытых рукавах, и числу актов стоек и свешиваний с края (в большей степени в группе, получавшей TIM-2). В группах, получивших соединение ANR-10, было отмечено незначительное повышение времени нахождения в открытых рукавах, а после введения соединения TIM-3, которое в Открытом поле снижало двигательную активность, животные вообще не выходили в открытый рукав установки за все время наблюдения.

Таблица 8. Оценка поведения животных в тесте приподнятый крестообразный лабиринт

Исследуемые соединения	Дозы	Время в открытом рукаве	Время в закрытом рукаве	Время в центральной зоне	Стойки в открытом рукаве	Свешивания с открытого рукава	Уринации	Дефекации
Контроль	-	49±9,44	105,7±11,7	25,3±4	1±0,44	0,6±0,3	0,2±0,2	0,4±0,2
Адамантановые производные ГАМК								
ANR-03	7	44±7,94	119,3±25,6	16,7±3	1±0,6	2,3±1,5	1±0,2	0±0
	14	29±6,44	127,7±13,3	23,3±5	0,3±0,3	0±0	2±1	0±0
	28	50±18,22	118±10,1	12±2*	0,3±0,3	3±1,2	2±0,6	0±0
	56	36±11,3	128±6	16±5,5	1±0,6	0,7±0,7	1±0,2	0,3±0,3
ANR-04	7	24,3±19,1	121±50,15	34,7±6,7	0,3±0,3	1,3±0,9	2±1	0,7±0,7
	14	23,3±16,8	140,3±20,1	16,4±6	0,7±0,7	0,7±0,7	0±0	0,7±0,3
	28	93,3±50	64±32,7	22,7±9	1,7±1,2	3,7±1,2	0±0	0±0
	56	90±47	52,7±36,5	37,3±10	0,7±0,3	3,3±0,9	0±0	0±0
ВКМ-22	7	63±6	62±14*	55±16	0±0	0,9±0,4	2±0	0±0
	14	99±7,5*	35±6*	46±16	3±0,3	4,9±1,2*	2±1	0±0
	28	80±5*	87±14	13±9	3±1	3,2±1,1	3±1	0±0
	56	63,5±3	90±3,1	28,5±22	2±0,2	1±0,4	2±1,5	1±0,2
Адамантановые производные альфа-пирролидона								
ANR-10	6	45±23	103±25	32±9	0,5±0,5	3±1	1±0,3	0±0
	11	54±2	90±4	36±12	0±0	2,5±0,5	2±1	2±1
	22	75,5±30	78±12	26,5±12	1±0,2	2,5±0,5	3±1,5	3±1
	44	14,5±10	40±30	125,5±30	0±0	0±0	2±1	1±0,2
IE-1	6	82,4±17,5	22±5*	75,6±9	0±0	1±0,3	1±0,2	0±0
	12	96±22*	33±8*	51±14	3±0,1*	3±0,4*	2±0,3	2±0,3
	24	80±12*	44±15*	56±19	2±0,1	4±0,3*	3±1,2	1±0,4
	47	90±7,2*	63±12*	27±7	2±0,6	2±1	1±0,2	3±0,2
TIM-2	6	69,5±5	36±8*	74,5±22	0±0	1±0,4	2±1	2±0,2
	11	95±13,5*	39±10,6*	46±16	4±0,3*	4±1*	1±0,3	0±0

	22	90±11*	41±13*	49±13,4	3±0,2*	4±0,3*	2±1	0±0
	44	60±8,1	61±8,8*	59±22	3±0,5	1±0,2	0±0	3±0,4
ТІМ-3	5	0±0	161±6	19+5	0±0	0±0	2±1	3±1
	10	0±0	173,5±1,5	6,5±1,5	0±0	0±0	2±0,3	2±1
	20	0±0	171,5±10	8,5±2,5	0±0	0±0	2±0,5	3±0,2
	40	0±0	98±10	82±12	0±0	0±0	2±0,3	1±0,4

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); n–число животных в группе.*

Таким образом, по результатам теста Приподнятый крестообразный лабиринт, который используется для изучения поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий), были выделены адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) и 2 адамантановых производных альфа-пирролидона (IE-1 и TIM-2), которые при однократном пероральном введении повышали время нахождения в открытых рукавах установки, в которых животные совершали большее количество стоек и свешиваний. С учетом выявленной анксиолитической активности у некоторых исследуемых соединений, на следующем этапе исследования было целесообразно оценить влияние данных соединений на процесс формирования и сохранения памятного следа, поскольку одной из важных характеристик анксиолитиков в клинической практике является наличие или отсутствие амнестического эффекта.

3.1.3 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на формирование, сохранение и воспроизведение памятного следа в тестах УРПИ и ТЭИ

Оценка влияния исследуемых соединений на процесс формирования памятного следа была проведена с использованием теста условная реакция пассивного избегания (УРПИ) и Теста экстраполяционного избавления (ТЭИ), обучение навыкам, в которых проводили на фоне введения исследуемых соединений.

В тесте УРПИ через 24 часа и 7 сутки после обучения (нанесения болевого раздражения) у группы контрольных животных выявлена сохранность памятного следа об аверсивной среде в темной камере: при последующих посадках в установку через 24 часа и 7 дней (Таблица 9), животные на протяжении всего эксперимента предпочитали оставаться в некомфортной зоне – ярко освещенном отсеке.

Среди животных, получавших соединения ВКМ-22, ANR-3, ANR-10, TIM-2 и TIM-3 во всех исследуемых дозах было отмечено сохранение памятного следа как

через 24 часа, так и на 7 сутки после обучения. В группах, получавших соединение ANR-4 (в дозах 7 и 14 мг/кг) и соединение IE-1 (в дозах 12, 24 и 48 мг/кг), при последующих воспроизведениях выученного навыка пассивного избегания аверсивной среды (через 24 часа и 7 дней), животные заходили в темный отсек с электродным полом, что указывает на негативное влияние данных соединений на формирование памятного следа.

В тесте ТЭИ (Таблица 9) в группах, получавших соединения ВКМ-22 (7 и 14 мг/кг), TIM-2 (12, 24, и 48 мг/кг) и TIM-3 (10, 20 и 41 мг/кг) было отмечено более быстрое, по сравнению с контрольной группой, решение экстраполяционной задачи как на этапе обучения, так и на этапах воспроизведения через 24 часа и 7 чуток. В группах, получавших соединения ANR-03, ANR-04 и IE-1 скорость решения экстраполяционной задачи была на уровне контрольной группы практически во всех дозах.

Таблица 9. Оценка поведения животных в тесте условная реакция пассивного избегания и тесте экстраполяционного избавления

Группа	Дозы	Латентный период захода в темный отсек в УРПИ			Латентный период подныривания в ТЭИ		
		Обучение	24 часа	7 суток	Обучение	24 часа	7 суток
Контроль	-	45±18	180±0	180±0	26,9±10,3	17,4±6,6	12,3±4,1
Адамантановые производные ГАМК							
ANR-03	7	102,7±30	180±0	180±0	19,5±9,1	14,3±10,9	4,5±3,5
	14	75,3±15	180±0	180±0	30,3±10,3	21,7±12,2	5,7±3,7
	28	29,7±12	180±0	180±0	46,5±1,5	12,5±1,5	3,3±1,2*
	56	17,7±9,7	180±0	180±0	52±21,3	10±7,5	7,3±4,1
ANR-04	7	73,7±20	145±35	148±22	22±7,9	6±3,2*	5,3±1,8*
	14	122±31,7	180±0	123±57	34,5±12,5	13±7,5	18,3±2,3
	28	72±20	180±0	180±0	31,8±14,8	20,7±11,3	2,3±0,9*
	56	130±50	180±0	180±0	30,3±16,4	10±2,5	2,3±0,3*
ВКМ-22	7	70±14	180±0	180±0	12,8±4,1*	2,2±1*	5±3*
	14	20±11	180±0	180±0	11,5±7*	1,2±0,3*	2±0,6*
	28	17±7,5*	180±0	180±0	19,3±8,1	4±1*	2±1*
	56	90±62	180±0	180±0	37,5±15,5	10,5±5,5	4±2*
Адамантановые производные альфа-пирролидона							
ANR-10	6	50±14	180±0	180±0	19±7,9	12±3,7	3,5±2,5*
	12	71,5±20	180±0	180±0	20,6±12,1	15,7±6,3	4±3*
	24	20±5	180±0	180±0	14,7±2,9	2±1*	3±2*
	48	24±7	180±0	180±0	17,7±5,9	2,5±0,5*	2,6±1,7*
IE-1	6	61±15	180±0	180±0	24,8±7,9	17±8,2	14,2±7,4
	12	69±19	55±10	14±5*	25,5±7,3	15,7±8,9	13,7±7,7
	24	30,5±2,5	78±12	44±12*	26,5 ± 5,1	20,6±8,8	13±5,8
	48	30,5±9,5	14±3	5±3*	30,5±1,5	14,7±2,9	21±8,2
TIM-2	6	72±12	180±0	180±0	17,6±8,7	3,5±2,9*	7±2,9*
	12	64±30	180±0	180±0	13,1 ± 5,6	2,3±1*	3±1*

	24	34,5±13,5	180±0	180±0	6,5±1,5	3±0,4*	1,5±0,3*
	48	100±50	180±0	180±0	10,5±6,5	2,6±0,7*	1,8±0,5*
ТІМ-3	5	48±13	180±0	180±0	23,1±4,7	3±1*	1,7±0,7*
	10	73±12	180±0	180±0	8,5±4,5*	2,5±0,5*	1,5±0,5*
	20	103±29	180±0	180±0	6±2*	6±3*	2,5±1,5*
	40	45±5	180±0	180±0	11,5±5,5	6,1±4,3*	7,5±5,5

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); n–число животных в группе.*

3.1.4 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тестах принудительное плавание по Porsolt и подвешивание мышей за хвост

Оценка антидепрессантной активности исследуемых соединений осуществлялась в тестах принудительное плаванье по Porsolt и подвешивание мышей за хвост.

В обоих тестах («Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание мышей за хвост») продолжительность иммобилизации (характеризующаяся как поведение отчаяния) в группах, получавших соединение ВКМ-22 (14 мг/кг), TIM-2 (12 мг/кг), IE-1 (12 мг/кг) и референтный препарат сравнения флуоксетин (СИОЗС, 20 мг/кг) была значительно ниже относительно показателей поведения животных контрольной группы. Также в тесте «Принудительное плавание по Porsolt» в опытных группах продолжительность активного плаванья была выше относительно контрольной, что в целом характеризует поведение животных без симптоматики отчаянья. Животные, получившие ВКМ-22, TIM-2, IE-1 практически без остановки предпринимают попытки к избавлению от аверсивной среды на протяжении всего наблюдения. Препарат сравнения амантадин значимо повлиял на время иммобилизации только в тесте «Подвешивание мышей за хвост» (Таблица 10).

Полученные результаты в тестах подвешивание мышей за хвост и принудительное плаванье по Porsolt позволяют предположить наличие антидепрессантного эффекта у соединений ВКМ-22, TIM-2 и IE-1.

Таблица 10. Оценка поведения животных в тесте принудительное плаванье по Porsolt и тесте подвешивание мышей за хвост

Группа	Дозы	Принудительное плаванье по Porsolt		Подвешивание мышей за хвост
		Активное плаванье, сек	Иммобилизация, сек	Иммобилизация, сек
Контроль	-	69±14	64±11	55±7
Адамантановые производные ГАМК				
ANR-03	7	45±15	40±17	38±12
	14	64±12	54±12	40±9
	28	48±14	61±9	50±12
	56	40±17	59±18	47±10
ANR-04	7	45±13	48±13	53±11
	14	58±19	52±20	40±14
	28	65±12	47±21	60±17
	56	70±18	61±10	44±8
ВКМ-22	7	80±11	47±7	29±7
	14	134±13*	17±4*	17±5*
	28	122±9*	26±8*	22±6*
	56	87±16	56±20	37±11
Адамантановые производные альфа-пирролидона				
ANR-10	6	71±12	67±16	40±14
	12	50±18	61±14	58±11
	24	66±13	48±19	42±19
	48	70±12	43±15	40±16
IE-1	6	99±11	43±16	30±7
	12	141±14*	22±3*	24±5*
	24	120±22*	30±6*	37±13
	48	88±13	35±9	54±17

ТІМ-2	6	95±14	40±12	39±8
	12	138±10*	19±4*	20±7*
	24	126±17*	24±11*	23±4*
	48	100±18	41±14	51±18
ТІМ-3	5	88±22	66±22	40±5
	10	71±14	56±12	66±9
	20	69±12	50±9	37±12
	40	55±15	68±19	70±21

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); n–число животных в группе*

3.1.5 Заключение

Отсутствие выраженного влияния соединений ANR-03, 04, 10 и TIM-3 на поведение животных в тестах открытое поле, ПКЛ, УРПИ, ТЭИ, принудительное плаванье по Porsolt и подвешивание мышей за хвост послужило поводом для их исключения из дальнейшего исследования. Было продемонстрированно отсутствие выраженной связи между оптической изомерией и психотропными свойствами (R) и (S) изомерами (3-адамант-1-ил)-4-аминобутановой кислоты (ANR-03 и ANR-04), оба изомера были малоактивны в подавляющем большинстве поведенческих тестов.

Также были выявлены соединения лидеры среди производных ГАМК с адамантановым заместителем (BKM-22) и производных альфа-пирролидона с адамантановым заместителем (TIM-2 и IE-1) с психотропной активностью, предположительно психоактивирующей, ноотропной, антидепрессантной и противотревожной, а также выбраны наиболее эффективные дозы исследуемых соединений, в связи с незначительным различием в фармакологических эффектах между дозировками в пределах 12-14 мг/кг и 24-28 мг/кг, и как наиболее предпочтительная была выбрана меньшая доза составляющая для соединения BKM-22 – 14 мг/кг, TIM-2 – 12 мг/кг и IE-1 – 12 мг/кг.

3.2 Оценка специфической активности адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в наиболее активной дозе в сравнении с референтными препаратами сравнения

Для более подробного изучения выявленной психоактивирующей, ноотропной, противотревожной и антидепрессантной активности исследуемых соединений в сравнении с референтными перпаратами было проведено исследование психотропной активности в наиболее эффективных дозах.

3.2.1 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Открытое поле

В тесте Открытое поле двигательная и ориентировочно-исследовательская активность у животных, получавших производные ГАМК с адамантановым заместителем (ВКМ-22) статистически значимо не отличалась относительно животных контрольной группы. Амантадин (адамантан-1-амин) не изменял горизонтальную двигательную активность, но статистически значимо повышал исследовательское поведение (Рисунок 3). В сравнении с контрольной группой, двигательная активность была значимо выше в группах, получивших соединение IE-1 и фенотропил. Ориентировочно-исследовательская активность была незначимо выше в группах, получивших соединение TIM-2 и препараты сравнения фенибут и фенотропил.

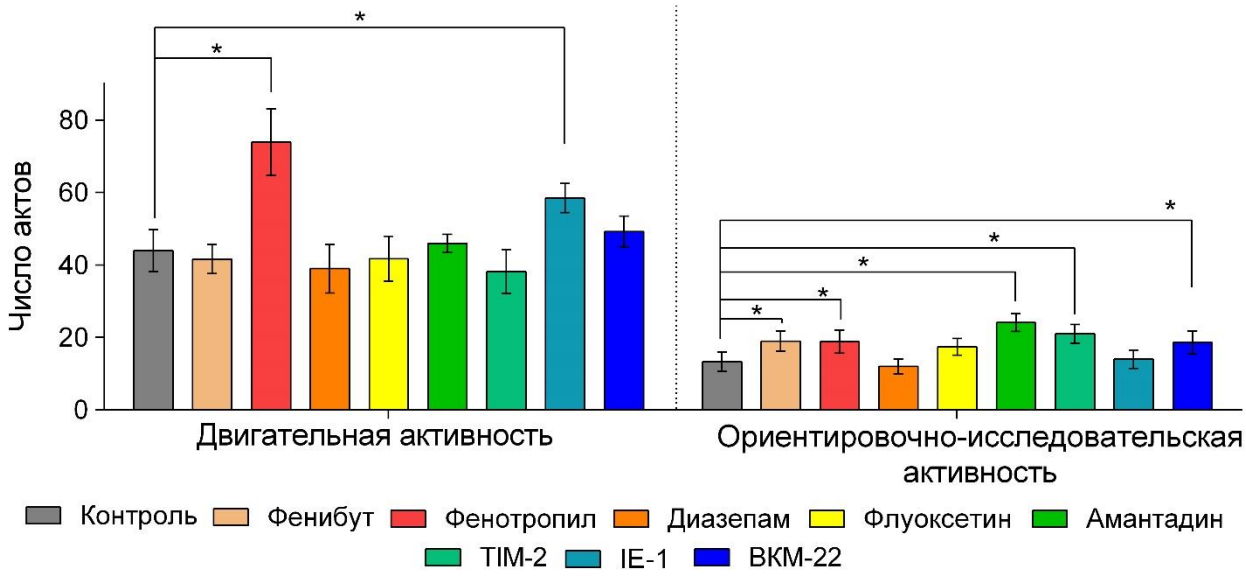


Рисунок 3. Показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных в тесте Открытое поле (ОП)

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); n–число животных в группе. ДА – двигательная активность (количество пересеченных квадратов); ОИА – ориентировочно-исследовательская*

активность (суммарное количество стоек и количество обследованных отверстий-норок); в группе «Контроль» n=12, в опытных группах n=10.

3.2.2 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт

Тест Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) используется для изучения поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий), позволяет оценить уровень тревожности животного и применяется для выявления соединений с анксиолитической активностью.

Животные, которые получали соединение ВКМ-22, TIM-2, IE-1, фенибут, фенотропил и диазепам чаще выходили в открытые рукава, дольше там находились и свешивались с их краёв, а также чаще пересекали центральную зону, исследуя установку, что свидетельствует об их антифобическом действии. Животные, получившие исследуемые соединения и референтные препараты, при выходе и нахождении в открытых, ярко освещенных и значительно поднятых над уровнем пола рукавах лабиринта менее тревожны и не испытывают чувство страха. Поведение животных, получавших препараты сравнения флуоксетин и амантадин статистически значимо не отличалось от поведения животных контрольной группы в условиях переменной стрессогенности в тесте приподнятый крестообразный лабиринт.

Таким образом, в условиях переменной стрессогенности производное ГАМК с адамантильным заместителем в гамма-положении (ВКМ-22) и адамантановые производные альфа-пирролидона (TIM-2 и IE-1) сопоставимо с препаратом сравнения – фенильным производным ГАМК (фенибутом), фенотропилом и диазепамом оказывают выраженное анксиолитическое действие, незначительно больше стимулируя двигательную (исследовательскую) активность (Рисунок 4).

Для уточнения специфичности и выраженности анксиолитического действия данных наиболее активных соединений на следующем этапе был выполнен тест конфликтной ситуации по Vogel.

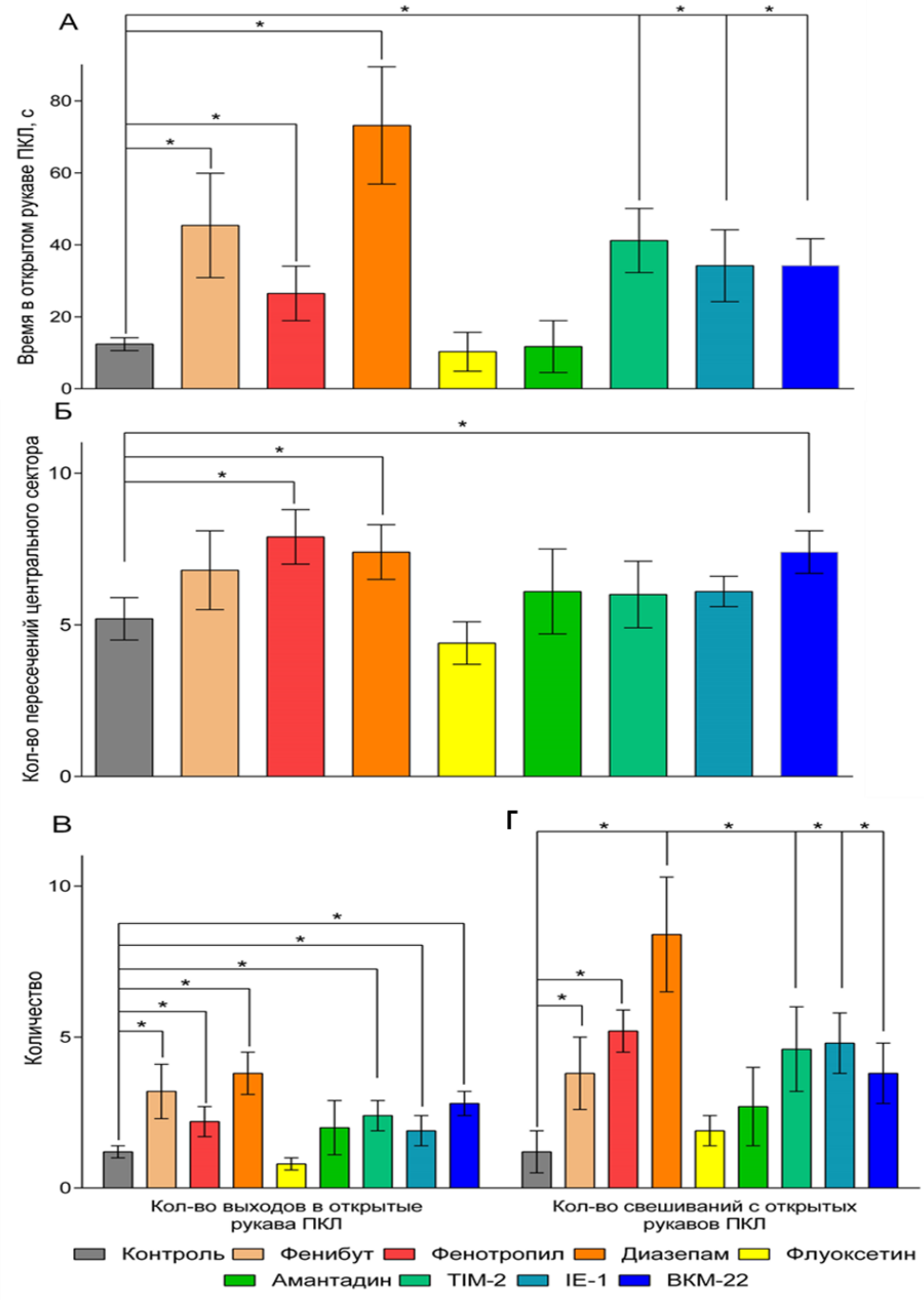


Рисунок 4. Продолжительность нахождения животных в открытых рукавах (А); количество пересечений центрального сектора (Б); количество выходов в открытые рукава (В); количество свешиваний с открытых рукавов (Г)

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой*

критерием Данна); n–число животных в группе. ПКЛ – Приподнятый крестообразный лабиринт, ОР – открытый рукав установки; в группе «Контроль» n=12, в опытных группах n=10.

3.2.3 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тесте конфликтной ситуации вариант Vogel

На следующем этапе мы провели оценку анксиолитической активности по методике конфликтной ситуации вариант Vogel, который является высокоспецифичным тестом при оценке анксиолитического действия исследуемых соединений. По результатам теста было отмечено выраженное влияние препаратов сравнения с анксиолитической активностью – фенибута и диазепама на поведение в условиях конфликтной ситуации: несмотря на аверсивный фактор животные многократно подходили к поилке, пытаясь утолить жажду. Соединение ВКМ-22, которое оказывало сходное с фенибутом действие на поведение в тесте ПКЛ, не оказало влияния в тесте конфликтной ситуации вариант Vogel, как и препарат сравнения амантадин. Животные, получавшие за 60 минут до тестирования исследуемое производное пирролидона-2 (соединение TIM-2) несмотря на действие сильного аверсивного фактора продолжали подходить к поилке, чтобы утолить жажду: количество подходов за 10 минут наблюдения для TIM-2, фенибута и диазепама составило соответственно 12,3±0,9, 13±0,7 и 18±0,8 ($p<0,05$). У животных, получивших соединение IE-1 и препарат сравнения фенотропил поведение в данном тесте, статистически значимо не отличалось от такового у животных контрольной группы (Таблица 11). Таким образом, возможно сделать предположение об отсутствии анксиолитического эффекта у соединения ВКМ-22 и напротив преимущественно анксиолитическом эффекте соединения TIM-2.

Таблица 11. Тест конфликтной ситуации вариант Vogel

Группа	n	Временной промежуток между 1м и 2м наказуемым подходом в Vogel	Количество наказуемых подходов в Vogel
Контроль	10	44,3±22,4	2,8±0,3
Фенибут	8	11,5±3,8*	13±0,7*
Амантадин	8	140±53,79	3±0,52
Фенотропил	8	44,0±14,1	5,5±0,4
Диазепам	8	3,0±0,9*	18±0,8*
Флуоксетин	8	94,5±14,2	2,7±0,3
ВКМ-22	8	103,7±33,1	2,7±0,3
TIM-2	8	6,2±2*	12,3±1*
IE-1	8	34,4±27,9	4,3±1

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); n–число животных в группе;* n *– число животных в группе.*

3.2.4 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на поведение животных в тестах принудительное плавание по Porsolt и подвешивание мышей за хвост

В обоих тестах («Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание мышей за хвост») продолжительность иммобилизации (характеризующаяся как поведение отчаяния) в группах, получавших соединение ВКМ-22 и референтный препарат сравнения флуоксетин (СИОЗС) была значительно ниже относительно показателей поведения животных контрольной группы. Также в тесте «Принудительное плавание по Porsolt» в опытных группах продолжительность активного плаванья была выше относительно контрольной, что в целом характеризует поведение животных без симптоматики отчаянья. Животные, получившие ВКМ-22, TIM-2, IE-1 и флуоксетин, практически без остановки предпринимают попытки к избавлению от аверсивной среды на протяжении всего наблюдения. Препарат сравнения амантадин значимо повлиял на время иммобилизации только в тесте «Подвешивание мышей за хвост» (Таблица 12).

Полученные результаты в тестах подвешивание мышей за хвост и принудительное плаванье по Porsolt позволяют предположить наличие антидепрессантного эффекта у соединений ВКМ-22, TIM-2 и IE-1.

Таблица 12. Выраженность депрессивного поведения в тесте «Подвешивание мышей за хвост» и «Принудительное плавание по Porsolt»

Группа	n	Подвешивание мышей за хвост	Принудительное плавание по Porsolt	
		Время иммобилизации (сек)	Время иммобилизации (сек)	Активное плавание (сек)
Контроль	10	174,6±20,6	45,3±5,9	82,3±11,5
Фенибут	8	200,4±20,8	58,2±21	165,8±14,7*
Амантадин	8	85,4±9,0*	29,0±6,7	112,8±21,4
Фенотропил	8	67,8±11,6*	5,0±2,1*	209±7,5*
Флуоксетин	8	70,5±9,4*	3,9±0,5*	125,3±24,2
ВКМ-22	8	71,5±12,8*	6,3±3,0*	135,8±28,5*
TIM-2	8	112,7±10,1*	12,5±2,5*	126±19,3*
IE-1	8	83,7±18,2*	4,5±2,0*	195,5±22,5*

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна);*

3.2.5 Оценка влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на сохранность и вопроизведение памятного следа в тестах УРПИ и ТЭИ

В тесте УРПИ через 7 суток после обучения (нанесения болевого раздражения) при заходе в темную камеру у животных, получавших ВКМ-22, TIM-2, фенотропил и фенибут латентный период захода в темный отсек с электродным полом был статистически значимо выше, чем в контрольной группе.

На каждом этапе в тесте ТЭИ животные из группы контроля и получавших соединение IE-1, сопоставимое количество времени тратили на решение экстраполяционной задачи. В группах, получавших ВКМ-22, TIM-2 и фенибут, животные статистически значимо быстрее решали задачу в тесте ТЭИ на этапе

обучения и быстрее решали задачу избавления от аверсивной среды через 24 часа и 7 суток.

Результаты тестов УРПИ и ТЭИ указывают на положительное сопоставимое влияние производного ГАМК с адамантильным заместителем в гамма-положении (ВКМ-22) и адамантанового производного альфа-пирролидона (TIM-2), а также препарат сравнения – фенильным производным ГАМК-фенибута на формирование и сохранение памятного следа. В тоже время быстрое решение задачи в стрессовой ситуации в тесте ТЭИ указывает на наличие анксиолитического эффекта у соединения ВКМ-22 и TIM-2 на уровне препаратов сравнения фенибут и фенотропил (Таблица 13).

Таблица 13. Влияние адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона на латентный период захода в темный отсек в тесте УРПИ; Латентный период подныривания в тесте ТЭИ в сравнении с референтными препаратами сравнения

Группа	n	Латентный период захода в темный отсек в УРПИ			Латентный период подныривания в ТЭИ		
		Обучение	24 часа	7 суток	Обучение	24 часа	7 суток
Контроль	10	8±1,1	115,8±15,6	117,2±13,5	43,5±10,2	19,2±3,2	6,8±1
Фенибут	8	58±31,5*	161,7±18,3	180±0*	6,8±0,9*	5±1,7*	2,6±0,4*
Амантадин	8	27,7±7,9*	180±0*	180±0*	35,4±3,6	6,3±2,1*	6,0±1,5
Фенотропил	8	11,5±	180±0*	180±0*	9,6±3,5*	3,9±1,4*	2,1±0,7*
Диазепам	8	73±15*	116±30	153±28	21±4,9*	12±1,1*	4,2±1,5*
ВКМ-22	8	8,4±3,1	180±0*	180±0*	13,4±6,1*	3,2±1*	2,2±0,2*
TIM-2	8	36±13,7*	180±0*	180±0*	11,6±3,7*	5,6±2,2*	2,2±0,2*
IE-1	8	7,5±2,5	154±32	56±38	34,8±9,5	19,8±1,5	5,8±1,5

*Примичание: * – различия статистически достоверны относительно группы «Контроль» при p <0,05 (критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); УРПИ – условный рефлекс пассивного избегания; ТЭИ – тест экстраполяционного избавления;*

Таким образом, представляющее собой производное ГАМК с адамантильным заместителем в гамма-положении соединение ВКМ-22, проявляет выраженную антидепрессантную активность, которая проявляется в тесте Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание мышей за хвост», и

умеренное анксиолитическое действие, проявляющееся в условиях переменной стрессогенности (ПКЛ), но не в условиях конфликтной ситуации (Vogel). Соединение ВКМ-22 в тестах УРПИ и ТЭИ сравнимо с фенибутом улучшало формирование и сохранение памятного следа, это позволяет считать, что вещество улучшает когнитивные функции. Для уточнения возможного механизма ВКМ-22 было проведено исследование его взаимодействия с рядом нейромедиаторных систем головного мозга.

3.2.6 Заключение

Введение адамантанового заместителя в гамма-положение структуры ГАМК (ВКМ-22) и производное альфа-пирролидона с 1-адамантильным заместителем 1-м положении (TIM-2) приводит к появлению у вещества выраженной антидепрессантной, ноотропной и умеренной анксиолитической активности. Исследуемое соединение IE-1 обладало сопоставимой с TIM-2 психотропной активностью, однако обладало негативным влиянием на сохранность и воспроизведение памятного следа в тесте экстраполяционного избавления и условной реакции пассивного избегания.

3.3 Изучение острой токсичности наиболее активных адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона

Изучение острой токсичности осуществлялось на белых беспородных мышах, однократное введение исследуемых соединений осуществлялось внутрижелудочно.

В сублетальных дозировках при введении экспериментальных веществ регистрировалось повышение двигательной активности, повышенный уровень агрессии, вертикализация животных на клетке по апоморфиновому типу, тремор, клонические судороги, нарушение дыхания. Зафиксированные токсические проявления соединения ВКМ-22 в дозе 2860±128 мг/кг имели относительное сходство с развитием токсических эффектов Амантадина. В ходе проведенного исследования была получена величина LD_{50} составляющая 2860±128 мг/кг. 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 ВКМ-22 в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 может быть отнесено к 3 классу токсичности.

Исследуемые соединения под лабораторным шифром TIM-2 и IE-1 при внутрижелудочном введении сублетальных доз оказывали схожие токсические проявления, вызывали возникновение тонических и клонических судорог, припадки по типу эпилептических, седацию и нарушение дыхания (Таблица 14).

Таблица 14. Величина острой токсичности соединения ВКМ-22, TIM-2, IE-1 и Амантадина при однократном внутрижелудочном введении мышам

Тестируемые образцы	LD_{50} мг/кг
Амантадин	700 $^{\Delta}$
Фенибут	900$^{\#}$
Диазепам	700*
ВКМ-22	2860 ±128
TIM-2	1820 ±205
IE-1	830 ±114

LD_{50} – препаратов сравнения было получено из литературных источников:

$^{\Delta}$(Vernier V. G., et al., 1969), $^{\#}$(Хаунина Р. А., Лапин И. П., 1976), *(NCHEM, URL: http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/pim181.htm#parttitle:8.%20%20toxicological%20analyses%20and%20biomedical%20investigations).

В сравнении TIM-2 и IE-1 соединение ВКМ-22 обладало меньшей токсичностью на фоне более выраженного нейропсихотропного действия, что послужило одной из причин дальнейшего исключения первых двух (TIM-2 и IE-1) из исследования.

3.3.1 Заключение

Исследуемое соединение ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) обладает выраженной антидепрессантной активностью в тестах

подвешивание мышей за хвост и принудительное плаванье по Porsolt, а также антифобической активностью в условиях переменной стрессогенности теста ПКЛ.

Соединение TIM-2 (1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он) обладает выраженной анксиолитической активностью в условиях переменной стрессогенности теста ПКЛ и методике конфликтной ситуации в варианте Vogel, а также антидепрессантной активностью в тесте подвешивание мышей за хвост и принудительное плаванье по Porsolt.

Соединение IE-1 (1-(3-гидроксиадамантан-1-ил)пирролидин-2-он) обладало антидепрессантной активностью в тесте принудительное плаванье по Porsolt и подвешивание мышей за хвост, однако оказывало негативное влияние на сохранность памятного следа в тесте экстраполяционного избавления и условной реакции пассивного избегания.

Введение адамантанового радикала в 4-е положение пирролидона-2 привело к получению вещества с низкой психотропной активностью (TIM-3). Каркасное соединение под лабораторным шифром ANR-03 ((R)-(3-адамант-1-ил)-4-аминобутановая кислота хлоргидрат), ANR-04 ((S)-(3-адамант-1-ил)-4-аминобутановая кислота хлоргидрат), также не проявляло психотропной активности во всех используемых поведенческих моделях.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ АНТИДЕПРЕССАНТНОЙ АКТИВНОСТИ АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА НА МОДЕЛИ СОЦИАЛЬНОЙ ДЕПРЕССИИ

В тесте Открытое поле у животных, группы «Депрессия+физ.р-р» двигательная и ориентировочно-исследовательская активность была в 10 раз ниже, относительно интактной группы (Таблица 15). Животные с депрессией, получающие исследуемое соединение ВКМ-22 были более, чем в 10 раз активнее, чем животные группы «Депрессия+физ.р-р» и пересекали на 25% больше квадратов, делали на 70% больше стоек и обследований отверстий в тесте Открытое поле в сравнении с группой, получавшей препарат сравнения имипрамин. Это свидетельствует о более эффективном устранении одного из основных симптомов депрессии «снижения двигательной и исследовательской активности», т.е. спутника тревожно депрессивных состояний (Рисунок 5). Животные с депрессией, получающие исследуеое соединение ТІМ-2 пересекали в 1,5 раза меньше квадратов, делали на 69% меньше стоек и обследований отверстий в сравнении с группой, получавшей препарат сравнения имипрамин. Страх открытых пространств перекрывает инстинкт исследования новой обстановки. Результаты, полученные в тесте «Открытое поле» согласуются с данными полученными в тесте «ПКЛ», что в сумме свидетельствует о более эффективном снижении уровня тревоги и повышения уровня исследовательской активности у животных получавших ВКМ-22 в сравнении с референтным препаратом имипрамином.

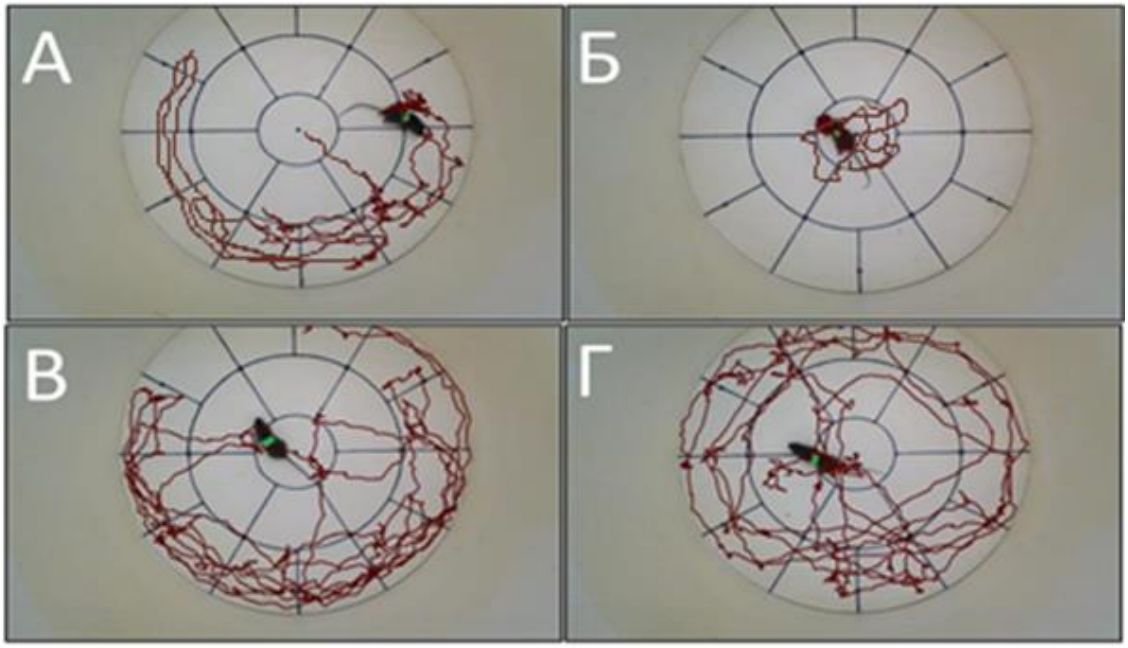


Рисунок 5 Двигательная активность животных в тесте открытое поле на фоне депрессивного состояния: А – интактное животное, Б – Депрессия + Физ-ор, В – депрессия + имипрамин, Г – депрессия + ВКМ-22

Таблица 15. Показатели поведения животных в тесте «Открытое поле», «принудительное плаванье по Porsolt», «подвешивание за хвост» и «социальное взаимодействие» до и после лечения

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

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

В тесте ПКЛ животные, группы «Депрессия+физ.р-р» длительное время пребывали в центральной зоне установки (Таблица 16), что свидетельствует о трудности принятия решений и пассивности реакции на изменения окружающей среды на фоне развившегося тревожно-депрессивного расстройства. Отсутствие выходов в открытые рукава и снижение количества переходов между рукавами (на 87% в сравнении с интактной группой) указывает на снижение двигательной активности, как и в тесте «Открытое поле», что может быть следствием повышенного уровня тревожности.

Таблица 16. Показатели поведения животных в тесте приподнятый крестообразный лабиринт до и после лечения

Латентный период выхода в открытый рукав (ПКЛ, сек)					
	Интакт	Депрессия +физ.р-р	Депрессия +ВКМ-22	Депрессия +ТІМ-2	Депрессия +Имипрамин
До лечения	92±28,5	169±11#	180±0	180±0	164,1±15,9
После лечения	107,9±28,6	180±0#	78,9±29,9*	123±22*	161,3±3
Количество выходов в открытые рукава (ПКЛ)					
До лечения	0,9±0,4	0,1±0,1#	0±0	0±0	0,1±0,1
После лечения	0,8±0,4	0±0#	1,1±0,4	2±0,7	0,1±0,1
Продолжительность нахождения в открытых рукавах (ПКЛ, сек)					
До лечения	23,2±12	3,1±3,1#	0±0	0±0	0,2±0,2
После лечения	12,1±6,7	0±0#	28,3±9,8*	31±11*	3,4±3,4
Продолжительность нахождения в центральной зоне (ПКЛ, сек)					
До лечения	37,6±3,8	161,1±7,4#	141,1±18	148±13	128,2±18,8
После лечения	31,7±2,4	102,8±29,7#	33,6±4,6*	74±9*	47,9±3,8*
Количество пересечений центральной зоны (ПКЛ)					
До лечения	5,9±0,5	2,1±0,5#	2,3±0,4	2,7±0,3	3±0,2
После лечения	3,8±0,3	0,5±0,2#	4,9±0,4*	3,8±0,5*	4,9±0,4*
Количество свешиваний в открытых рукавах (ПКЛ)					

До лечения	0,9±0,4	0±0	0±0	0±0	0±0
После лечения	0±0	0±0	0,8±0,4	1±0,2	0±0
Количество заходов в закрытые рукава (ПКЛ)					
До лечения	4,2±0,5	1±0,5#	1,3±0,4	2±0,6	1,9±0,2
После лечения	3±0,2	0,5±0,2#	3,8±0,6*	7±0,8*	4,8±0,5*
Продолжительность нахождения в закрытых рукавах (ПКЛ, сек)					
До лечения	119±13,6	15,8±6,1#	38,9±18	32±16	51,6±18,8*
После лечения	136,2±7,4	77,3±29,7#	118,1±10,9*	75±23	128,7±2,8*
Количество стоек в закрытых рукавах (ПКЛ)					
До лечения	4,2±0,8	0±0#	0±0	0±0	0±0
После лечения	2,6±0,2	0±0#	2,8±0,3*	0±0	2,4±0,3*

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

Проводимая терапия значительно повлияла на поведение животных в условиях переменной стрессогенности теста ПКЛ: животные совершали больше пересечений центральной зоны, выходили в открытые рукава, где проводили значительное время, что указывает на сниженный уровень тревожности перед новой аверсивной средой. Большее число актов стоек в закрытых рукавах указывает на сохранение исследовательской активности и интереса к новой среде на фоне терапии. При этом, животные, получавшие адамантановое производное ГАМК ВКМ-22 и адамантановое производное альфа-пирролидона (ТIМ-2) в 8 раз дольше пребывали в открытых рукавах установки, а латентный период выхода в открытые рукава под действием ВКМ-22 сокращался в 2 раза, а под действием ТIМ-2 на 76%. Это свидетельствует о сопоставимом снижении тревожно-депрессивной симптоматики у животных получавших исследуемые соединения.

В тесте «социального взаимодействия» оценивалась выраженность социальной ангедонии животных на фоне развившегося депрессивно-подобного состояния. Животные группы «Депрессия+физ.р-р» совершали меньшее количество подходов к новому партнеру, предпочитая избегать контакты с другими особями, что видимо было связано с прошлым негативным опытом. Таким образом, количество подходов к новому партнёру составило 0,9±0,1 (в 8 раз реже в сравнении с интактной группой животных), а продолжительность взаимодействия между особями 2±0,3 секунд (в 9 раз короче, в сравнении с интактной группой животных). Животные, которым вводили препарат сравнения имипрамин совершали в 3 раза больше подходов (2,9±0,2) и в 3 раза дольше пребывали рядом с новым партнером относительно группы «Депрессия+физ.р-р» (7,1±0,6 секунд). При этом у животных получавших адамантановое производное ГАМК – соединение ВКМ-22 количество подходов и время пребывания вблизи новой особи было еще больше, чем в группе, получавшей трициклический антидепрессант имипрамин: 5,8±0,5 и 12,8±0,7 секунд соответственно. Исследуемое адамантановое производное альфа-пирролидона повышало количество подходов к новому партнеру, однако не вызывало повышения продолжительности взаимодействия с ним. Полученные результаты свидетельствуют о большей эффективности исследуемого соединения (ВКМ-22) в социализации животных и демонстрируют более эффективное стирание негативных воспоминаний взаимодействия с другими особями в сравнении с препаратом сравнения имипрамином.

Для депрессивных состояний у животных характерны тревожность, снижение двигательной и исследовательской активности, замедление реакции на внешние стимулы и оценивается в тестах ОП, ПКЛ. Депрессивные состояния хорошо проявляются в тестах ПМХ и Porsolt.

В тесте «подвешивание мышей за хвост» и «принудительное плаванье по Porsolt» продолжительность иммобилизации в группе «Депрессия+физ.р-р» превышала таковую в интактной группе на 132% и 65% соответственно, что свидетельствует о наличии выраженного поведенческого отчаянья, которое

интерпретируется как состояние безысходности в период депрессии у человека (Alonso-Castro A.J., et al., 2019). Продолжительность иммобилизации в тесте ПМХ у групп животных получавших ВКМ-22 и имипрамин была меньше, чем у животных с депрессией на 74% и 72% соответственно ($p < 0.05$). В тесте «принудительного плаванья по Porsolt», в группах животных, получавших ВКМ-22 и имипрамин продолжительность иммобилизации, была меньше в 4 и 3 раза соответственно относительно группы «Депрессия+физ.р-р» ($p<0.05$), что указывает о наличии сопоставимой антидепрессантной активности у исследуемого соединения и имипрамина. Соединение ТІМ-2 в тесте ПМХ и принудительное плаванье по Porsolt, вызывало сокращение продолжительности иммобилизации в среднем на 20% и 60% соотвественно, полученные результаты уступали препарату сравнения имипрамину.

Исследуемое адамантановое производное ГАМК, при курсовом введении в условиях модели «социальной депрессии» существенно снижало проявление депрессивного синдрома, превосходя по выраженности действия препарат сравнения из группы трициклических антидепрессантов – имипрамина.

Способность взаимодействия с себе подобными является важным компонентом социального поведения и нормального развития индивида, проживающего в сообществе. Депрессивные состояния часто вызывают нарушения в коммуникативности, что негативно отражается на дальнейшем психоэмоциональном состоянии пациента. В нашем исследовании животные, получающие исследуемое соединение ВКМ-22, независимо от полученного негативного социального опыта поражений при взаимодействии с агрессором, были более коммуникабельными и социализированными с новым неизвестным партнером в сравнении с группой животных, получавших трициклический антидепрессант имипрамин.

Опыт ежедневных социальных поражений приводит к изменению основных параметров поведения животных, что проявляется в тестах «Социального взаимодействия»; «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле», которые позволяют оценить выраженность уровня тревожности животных. Группа животных, получавших соединение ВКМ-22 большее количество времени, проводило в открытых рукавах установки ($p<0,05$), совершали большее количество перемещений и поведенческих актов ($p<0,05$), что в сумме свидетельствует о более низком уровне тревожности животных получавших ВКМ-22 в сравнении с препаратом сравнения имипрамином.

Заключение

20-дневная социальная конфронтация, построенная на основе сенсорного контакта вызывает у животных, испытывающих постоянные неудачи и хронический стресс, подавленные состояния в виде «выученной беспомощности» и «поведенческого отчаяния» (Рисунок 6).

Исследуемое адамантановое производное ГАМК, соединение ВКМ-22, при курсовом введении животным с депрессий, вызванной 20 дневной конфронтацией, более эффективно, чем препарат сравнения имипрамин устраняло проявление депрессии, восстанавливало двигательную и исследовательскую активность и более выраженно снижало тревогу и нормализовало социализацию депрессированных животных.

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

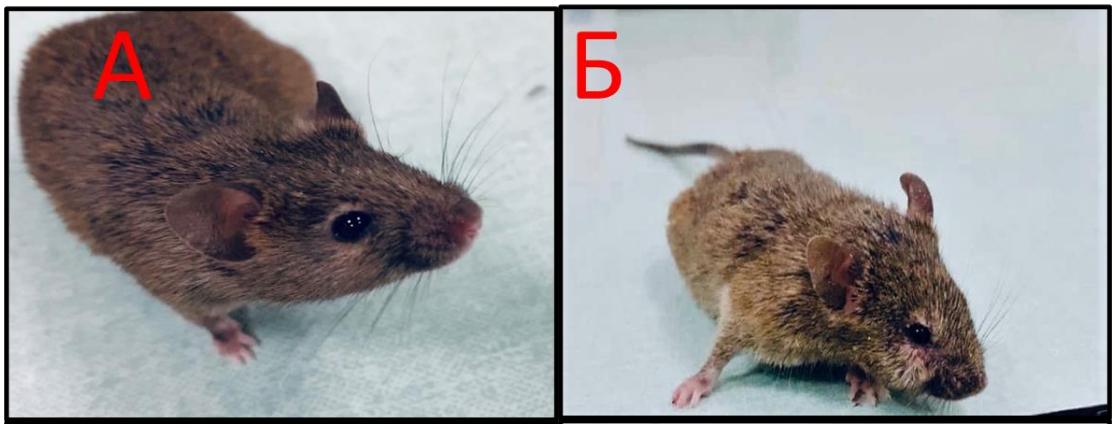


Рисунок 6 А – лабораторное животное контрольной группы до начала моделирования депрессии, Б – лабораторное животное контрольной группы после 20 дней моделирования депрессии («жертва»)

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРЕМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И НА ФОНЕ ХНМК

5.1 Оценка терапевтического влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях экспериментальной ишемии головного мозга

В тесте открытое поле (Рисунок 7А), у животных, на фоне нарушения мозгового кровообращения (НМК+NaCl) зафиксировано снижение количества пересеченных квадратов на 37%, а показателя ориентировочно-исследовательской активности более чем в 4 раза меньше относительно ложнооперированной группы (ЛО). Курсовое введение исследуемого соединения ТІМ-2 (НМК+ТІМ-2), ВКМ-22 (НМК+ВКМ-22) и препарата сравнения цитиколина (НМК+цитиколин) способствовало лишь незначительному повышению данных показателей в сравнении с группой НМК+NaCl.

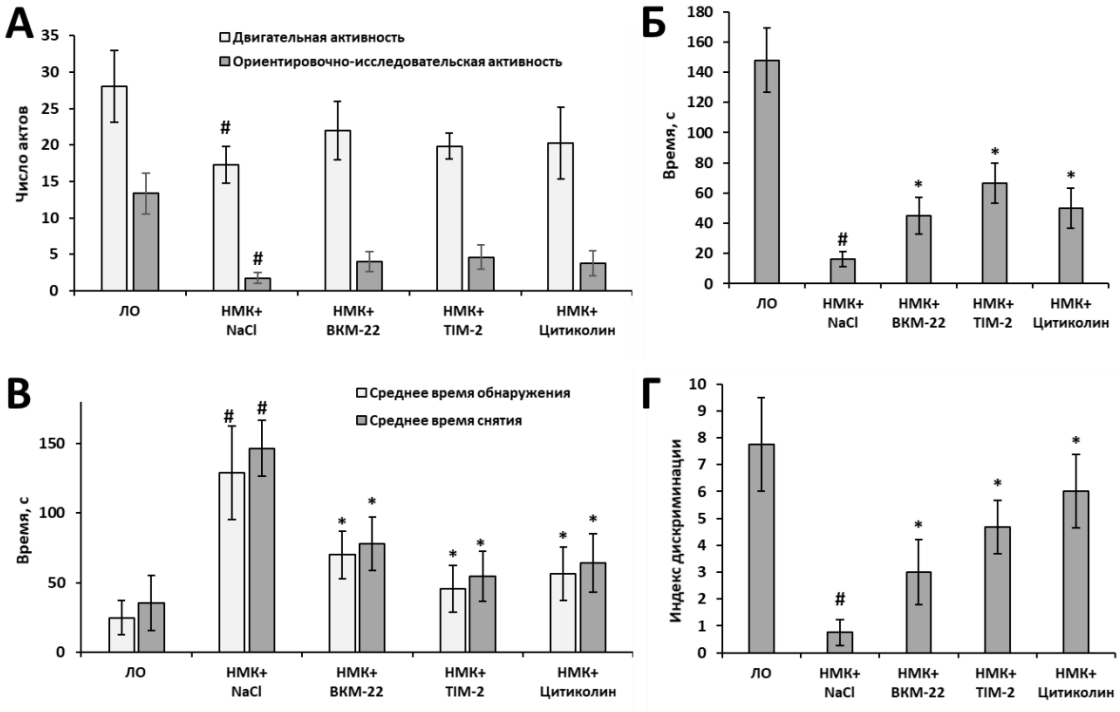


Рисунок 7 Двигательная и ориентировочно-исследовательская активность животных в тесте Открытое поле (А), время удержания на вращающемся

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

*Примечание: * - отличия от группы «НМК+NaCl» статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); # – отличия от группы «НМК+NaCl» статистически значимы (p≤0,05, критерий Манна-Уитни); ЛО – ложнооперированные животные.*

Нарушение мозгового кровообращения оказало негативное влияние на координацию движений животных в тесте удержания на вращающемся стержне (Ротарод) (Рисунок 7Б). Средняя продолжительность удержания, на котором у животных с НМК (НМК+NaCl) была на 89% меньше в сравнении с ложнооперированной группой (ЛО). В экспериментальных группах, которым в качестве терапии вводили исследуемое соединение ТІМ-2 (НМК+ТІМ-2), ВКМ-22 (НМК+ВКМ-22) и препарат сравнения цитиколин (НМК+цитиколин) средняя продолжительность удержания на вращающимся стержне была больше, чем в группе НМК+NaCl на 75, 64 и 34% соответственно. Нарушение мозгового кровообращения стало причиной выраженного сенсорно-моторного нарушения в адгезивном тесте (Рисунок 7В). Животные, получавшие в качестве лечения физиологический раствор (НМК+NaCl) в 9 раз дольше, не обращали внимание на инородный предмет, находящийся на ладонной поверхности передних лап, и в 8 раз дольше его устраняли, чем ложнооперированные. Крысы с нарушением мозгового кровообращения, получавшие в качестве лечения исследуемые соединения ТІМ-2 (НМК+ТІМ-2), ВКМ-22 (НМК+ВКМ-22) и препарат сравнения цитиколин (НМК+цитиколин) обнаруживали инородный объект на 65, 45 и 56% соответственно быстрее. А время удаления инородного объекта в сравнении с группой животных НМК+NaCl в группе получавшей соединение ТІМ-2 была на 63%, меньше, чем в группе получавшей ВКМ-22 на 46% и в группе получавшей цитиколин на 56%. Оценка индекса дискриминации в тесте распознавание нового объекта (Рисунок 7Г) позволила выявить, что повторное предъявление старого объекта вместе с новым не вызывает изменения интереса у животных с

нарушением мозгового кровообращения (НМК+NaCl) и животные затрачивают сопоставимое время на их изучение, что указывает на выраженные нарушение кратковременной памяти. Животные, получавшие в качестве лечения соединение ТІМ-2 проявляли значительно больший интерес к новому объекту и тратили более продолжительное время на его изучение. Таким образом, индекс дискриминации в группе животных получавших соединение ТІМ-2 превышал показатели животных получавших физиологический расствор (НМК+NaCl) на 82%, в группе животных получавших соединение ВКМ-22 на 73% и в группе животных получавших препарат сравнения цитиколин на 86%.

Полученные результаты свидетельствуют о более позитивном влиянии адамантанового производного альфа-пирролидона (ТІМ-2) на координацию движений, коррекцию сенсорно-моторных и когнитивных нарушений на фоне ишемии, в сравнении с исследуемым адамантановы производным ГАМК (ВКМ-22).

5.2 Оценка терапевтического влияния адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона в условиях ХНМК

Тестирование животных в Открытом поле показало, что у крыс, которым моделировали ХНМК и потом вводили плацебо, среднее число пересеченных квадратов составило 17±3,8, что на 40% меньше, чем в ложно-оперированной группе (24±2,7). Двигательная активность животных, которым вводили соединение ТІМ-2 (ХНМК+ТІМ-2), ВКМ-22 (ХНМК+ВКМ-22), фенибут (ХНМК+Фенибут) и флуоксетин (ХНМК+Флуоксетин) была сопоставима и значительно превышала таковую в группе ХНМК без лечения (Рисунок 8А).

Ориентировочно-исследовательская активность (ОИА, сумма пристеночных и свободных стоек и заглядываний в отверстия) у животных с ХНМК без лечения была значимо ниже, чем у ложно-оперированных. У животных с ХНМК, получавших исследуемое соединение ТІМ-2 и препараты сравнения двигательная активность и исследовательское поведение статистически значимо

превышали показатели группы с ХНМК, не получающей лечения Значительные различия в показателях, отражающих ОИА отмечались между животными групп ХНМК и остальными эксперементальными группами.

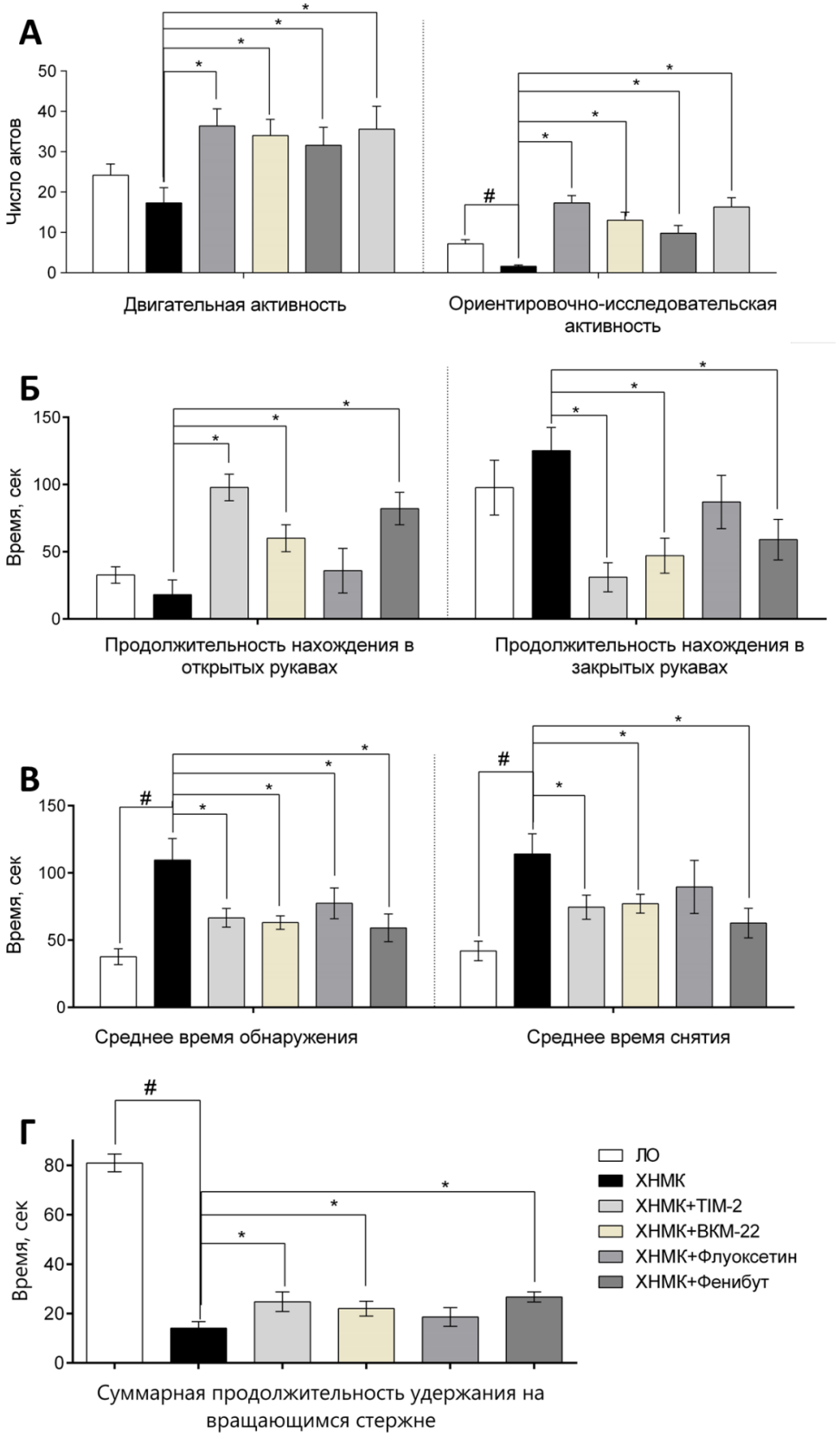


Рисунок 8. Показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных с ХНМК в открытом поле (А), продолжительности нахождения в открытых и закрытых рукавах ПКЛ (Б), времени обнаружения и снятия стикера с ладонной поверхности передних конечностей в адгезивном тесте (В), суммарной продолжительности удержания на вращающемся стержне в тесте Rotarod (Г).

*Примечание: * - отличия от группы «ХНМК» статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); # – отличия от группы «ЛО» статистически значимы (p≤0,05, критерий Манна-Уитни); ЛО – ложнооперированные животные.*

В приподнятом крестообразном лабиринте животные с ХНМК, которым вводили ТІМ-2 (ХНМК+ТІМ-2), фенибут (ХНМК+Фенибут) и в меньшей мере ВКМ-22 (ХНМК+ВКМ-22) больше времени находились в открытых рукавах в сравнении с животными с ХНМК без лечения и получавших флуоксетин (ХНМК+Флуоксетин), что свидетельствует об отсутствии у них тревожности при выходе в открытые рукава (Рисунок 8Б).

В адгезивном тесте у животных с ХНМК были выявлены сенсорно-моторные нарушения, которых не отмечали у ложно-оперированных. Группа с ХНМК без лечения значительно дольше не обращала внимание и не устраняла инородный объект с ладонной поверхности передних лап, в то время как животные, которым вводили ТІМ-2, ВКМ-22 или препараты сравнения Фенибут, Флуоксетин на сопоставимом уровне и значимо быстрее обнаруживали / удаляли инородный объект (Рисунок 8В).

Координация движений животных с ХНМК в тесте Rotarod была снижена. Так средняя продолжительность удержания на вращающемся стержне была значительно короче в сравнении с показателями ложно-оперированных животных. После введения ТІМ-2, ВКМ-22 или Фенибута у животных сопоставимо продолжительность удержания на вращающемся стержне была больше, введение Флуоксетина не влияло на этот показатель (Рисунок 8Г).

У животных с ХНМК выявлена наиболее высокая, чем у ложнооперированных, продолжительность иммобилизации, оцениваемая при не избегаемом плавании по Porsolt. Крысы с ХНМК, которым вводили TIM-2 (ХНМК+TIM-2), ВКМ-22 (ХНМК+ВКМ-22) или флуоксетин (ХНМК+Флуоксетин) в несколько раз менее продолжительно находились в состоянии иммобилизации (без движений) чем животные группы с ХНМК, не получавших лечения, что свидетельствует о более низком уровне поведенческого отчаянья. Фенибут не влиял на продолжительность иммобилизации, и она была сопоставима с группой животных с ХНМК (Рисунок 9А).

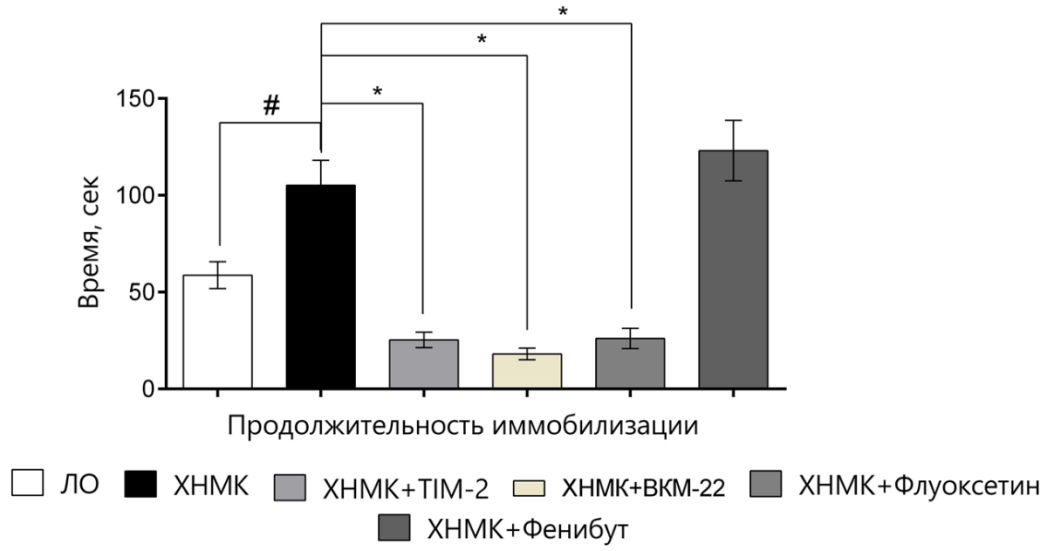


Рисунок 9. Продолжительность иммобилизации животных в тесте Porsolt

*Примечание: * - отличия от группы «ХНМК» статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); # – отличия от группы «ЛО» статистически значимы (p≤0,05, критерий Манна-Уитни); ЛО – ложнооперированные животные.*

При оценке животных в трехкамерном социальном тесте было отмечено, что животные с ХНМК предпочитали находиться в центральной зоне установки и редко ее покидали, т.е. не проявляли исследовательского интереса к окружающей их среде (Рисунок 10А). Крысы, которым была проведена ложная операция меньшее время проводили в центральной зоне, быстрее её покидали и чаще

посещали другие отсеки, что свидетельствует об их высокой исследовательской активности и отсутствии социальной дезориентации.

Крысы, которым вводили соединение ТІМ-2, ВКМ-22 и флуоксетин в среднем значительно дольше пребывали в левой и правой камере, что позволяет предположить положительное влияние этих веществ на исследовательскую активность у животных с ХНМК. Аналогичное введение фенибута значимо не влияло на данный показатель.

Уровень социализации животных с ХНМК также оценивали в трехкамерном социальном тесте, для этого в левую камеру установки помещали социальный объект №1 (интактная крыса, того же пола, возраста и сопоставимого веса), а в правую камеру несоциальный объект №2 (цилиндр). Крысы, которым моделировали ХНМК в сравнении с ложнооперированными меньше времени проводили в камере с социальным объектом демонстрируя поведение социального избегания. Также эти животные предпочитали игнорировать и несоциальный объект, проводя основную часть времени в центральной зоне установки (как и в предыдущем этапе), что в сумме указывает на негативное влияния ХНМК не только на исследовательскую активность, но и социальную дезориентацию животных (Рисунок 10Б).

Животные с ХНМК и которым вводили ТІМ-2 (ХНМК+ТІМ-2), ВКМ-22 (ХНМК+ВКМ-22) или флуоксетин (ХНМК+Флуоксетин) дольше находились в камере с социальным объектом, в то время как, крысы, которым вводили фенибут (ХНМК+Фенибут) лучше исследовали все пространство установки, чаще и на большее время, перемещались в отсек, где был размещён несоциальный объект.

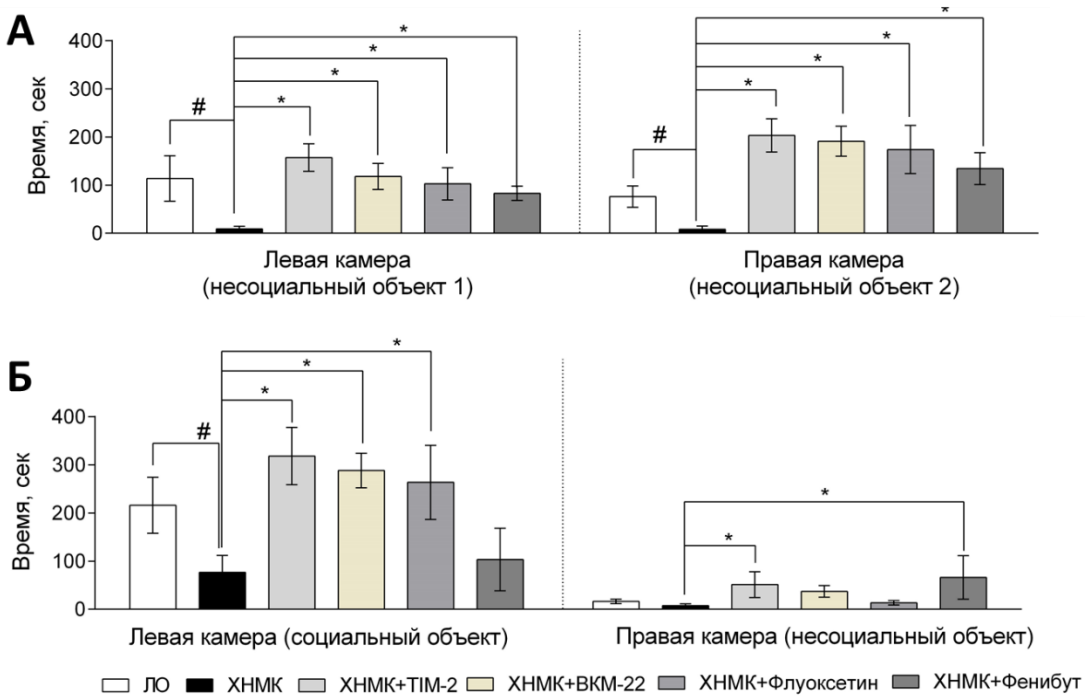


Рисунок 10. Продолжительность нахождения животных в левой и правой камере трехкамерного социального теста на первом и втором этапе тестирования: А – первый этап тестирования, оценка продолжительности нахождения в левой и правой камере в которых размещены несоциальные объекты № 1 и 2 (цилиндры). Б – второй этап тестирования, оценка продолжительности нахождения в левой камере (социальный объект, крыса) и правой камере (несоциальный объект, цилиндр)

*Примечание: * - отличия от группы «ХНМК» статистически значимы (p≤0,05, критерий Краскелла-Уоллиса с постобработкой критерием Данна); # – отличия от группы «ЛО» статистически значимы (p≤0,05, критерий Манна-Уитни); ЛО – ложнооперированные животные.*

В проведенном исследовании на фоне ХНМК у животных наблюдался выраженный психоневрологический дефицит, проявляющийся снижением двигательной и исследовательской активности, а также значительным ухудшением сенсорно-моторной функции передних конечностей и координации движений, что соответствует основным симптомам многих неврологических заболеваний, связанных с нарушением мозгового кровообращения. Также у животных наблюдался высокий уровень тревоги и низкий уровень социализации, а в условиях модели выученной беспомощности более выраженное поведенческое отчаяние, что

часто наблюдается в клинической практике и негативно влияет на эффективность терапии, пролонгируя реабилитацию.

Курсовое введение исследуемого адамантанового производного ГАМК (ВКМ-22) и альфа-пирролидона (ТIМ-2), фенибута и в меньшей степени флуоксетина, способствовало снижению выраженности проявлений неврологический дефицита у животных с ХНМК ($p < 0.05$). При оценке уровня тревоги и социализации, а также моделировании условий выученной беспомощности, соединения ВКМ-22 и ТIМ-2 в значительной степени влияли на показатели в данных тестах, не уступая по эффективности фенибуту. Необходимо отметить, что в условиях выученной беспомощности фенибут не оказывал влияние на время иммобилизации (показатель отчаяния).

Эти данные подтверждают, что типичные анксиолитики способны уменьшать тревожную симптоматику, но не влияют на депрессивную, тогда как антидепрессанты подавляют депрессию, но не оказывают противотревожного действия. В нашем исследовании ТIМ-2 менее выраженно уменьшал депрессивные проявления в сравнении с ВКМ-22, но превосходил последнего по выраженности анксиолитической активности на фоне НМК.

5.3 Заключение

Исследуемое адамантановое производное альфа-пирролидона (ТIМ-2), которое вводили животным на протяжении 7 суток, спустя 24 часа после перевязки общих сонных артерий статистически значимо снижало выраженность сенсорных, моторных и дементных нарушений на сопоставимом с референтным препаратом (цитиколин) уровне и превосходя по данным видам активности адамантановое производное ГАМК (соединение ВКМ-22).

При курсовом введении в условиях хронического нарушения мозгового кровообращения, адамантановое производное альфа-пирролидона (соединение ТIМ-2) способствует более выраженному снижению психоневрологических нарушений, тревожной, социальной дезориентации и сенсорно-моторных

нарушений в сравнении с адамантановым производным ГАМК (соединением ВКМ-22). Однако, уступает последнему в эффективности устранения депрессивных проявлений развившихся на фоне ХНМК.

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АДАМАНТАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАМК И АЛЬФА-ПИРРОЛИДОНА С НЕКОТОРЫМИ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫМИ СИСТЕМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

6.1 Изучение адамантановых производных ГАМК

6.1.1 Исследование взаимодействия адамантанового производного ГАМК с нейромедиаторными системами головного мозга

Для соединения ВКМ-22 было отмечено сопоставимое с амантадином выраженное влияние на дофаминергическую систему: снижение продолжительности каталепсии при введении галоперидола (блокатора D2- и D4-рецепторов дофамина) и повышение продолжительности вертикализации при введении апоморфина (агониста постсинаптических дофаминовых рецепторов) (Таблица 17). Также для соединения ВКМ-22 было выявлено незначительное влияние на систему ГАМК (тенденция к снижению продолжительности судорог при введении коразола и пикротоксина). При этом для соединения ВКМ-22 не было отмечено взаимодействие с холинергической (не влияло на продолжительность тремора после введения ареколина или никотина) и серотонинергической системой (не влияло на интенсивность гиперкинеза при введении 5-окситриптофана).

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

Таблица 17. Взаимодействие соединения ВКМ-22 с агонистами/антагонистами различных нейромедиаторных систем in vivo

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

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

6.1.2 Исследование молекулярного докинга тестируемых соединений

Для объяснения различного действия фенибута и синтезированных соединений был проведен их докинг к рецептору ГАМК (4ms4 из базы данных RCSB) с использованием программного обеспечения AutoDock Vina. Использованная модель белка содержала в качестве лиганда молекулу баклофена.

Для оценки корректности процедуры докинга была использована оптимизированная модель баклофена, в результате докинга которой расположение лиганда в сайте связывания белка, определенное при помощи РСА, практически полностью воспроизводилось (Рисунок 11).

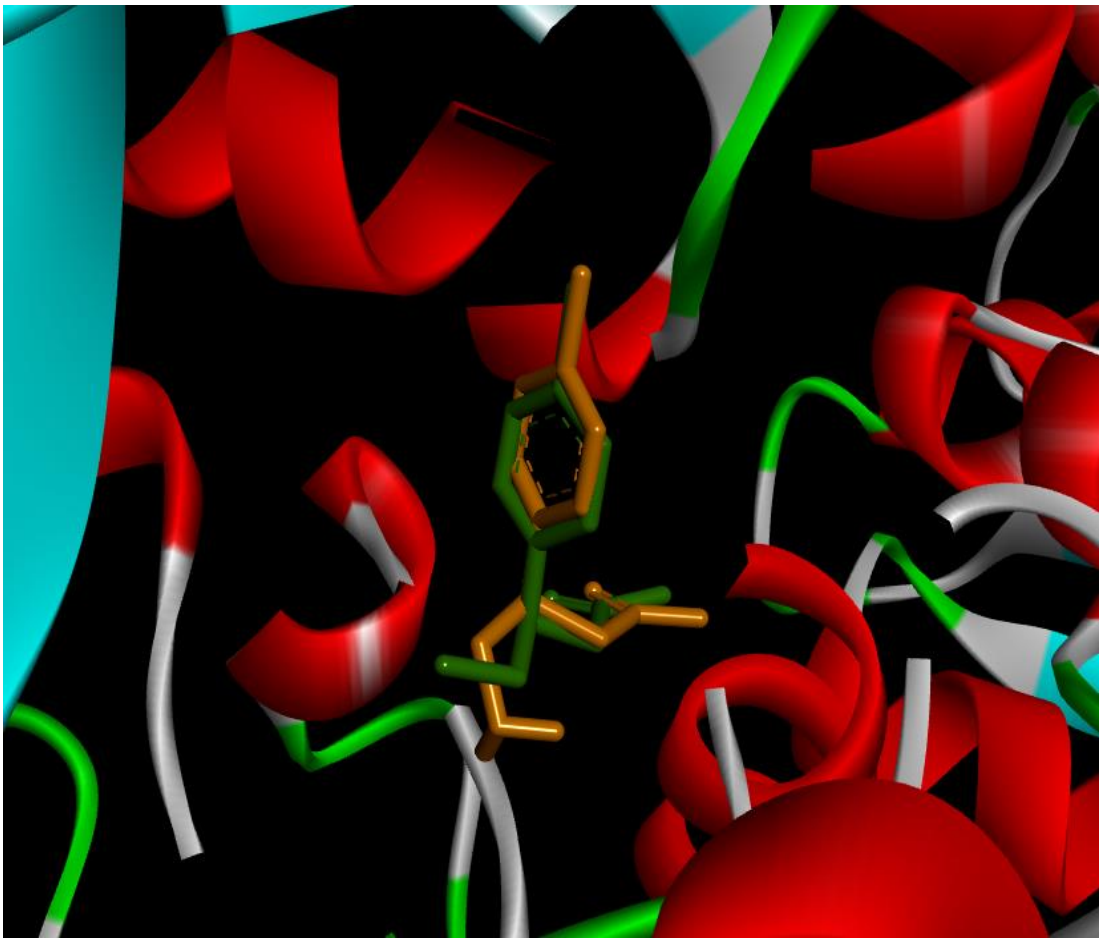
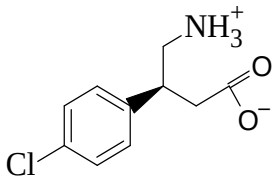
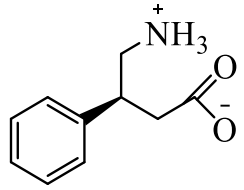
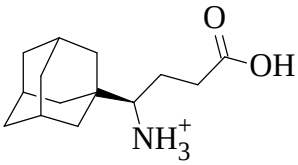
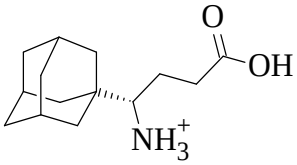


Рисунок 11 Расположение молекул баклофена в сайте связывания ГАМК рецептора 4ms4, определенной экспериментально при помощи РСА эксперимента (зеленое) и при помощи докинга (оранжевое).

Молекулярный докинг тестируемых соединений выявил достаточно близкие энергии связывания, однако набор аминокислотных остатков, обеспечивающих нахождение лиганда в активном центре рецептора, оказался различным.

Таблица 18. Результаты молекулярного докинга R-фенибута и соединений ANR-03, ANR-04 и BKM-22

Формула	Энергия связывания, ккал/мол	Связанные аминокислотные остатки
 *(R)*-baclofen	-6.9	TRP65, SER130, GLY151, SER152, SER153, HIS170, TYR250, ILE276, TRP278, GLU349
 *(R)*-phenibut	-7.4	TRP65, SER130, GLY151, SER152, SER153, HIS170, TYR250, ILE276, TRP278, GLU349
 (R)-BKM-22	-4.8	TRP65, HIS170, SER153, TYR250, TRP278
 (S)-BKM-22	-5.6	TRP65, HIS170, SER153, TYR250, TRP278

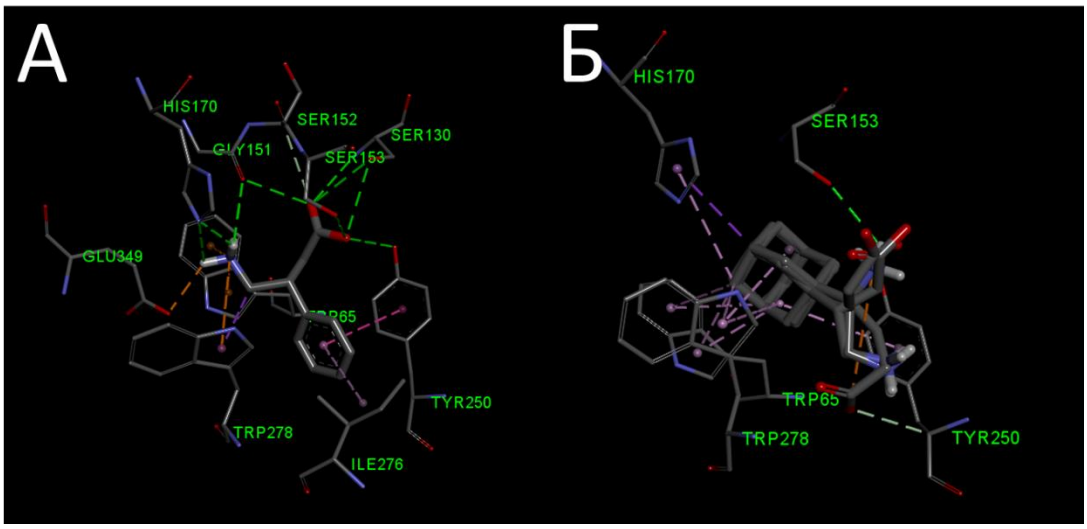


Рисунок 12 Карты связывания фенибута (вверху) и соединений ANR-03, ANR-04 и (R)-BKM-22 и (S)-BKM-22 в наложении (внизу), полученные при помощи молекулярного докинга

6.2 Изучение активности адамантановых производных альфа-пирролидона

6.2.1 Исследование взаимодействия адамантанового производного альфа-пирролидона с нейромедиаторными системами головного мозга

Для уточнения возможного механизма действия соединения-лидера (TIM-2) на следующем этапе было проведено исследование его взаимодействия с рядом нейромедиаторных систем головного мозга.

Для соединения TIM-2 было отмечено выраженное влияние на систему ГАМК: при введении коразола и пикротоксина (антагонистов ГАМК-А) у животных, получивших TIM-2, отмечалось значимое повышение латентного периода гибели по сравнению с контрольной группой (Таблица 19). Учитывая связь судорожного действия коразола и пикротоксина с подавлением тормозящей функции ГАМК, можно предполагать, что выявленные психотропные свойства соединения TIM-2 обусловлены активацией ГАМК-ергической системы. В ходе дальнейшего исследования для соединения TIM-2 не было выявлено взаимодействия с дофаминергической (не влияло на продолжительность

каталепсии при введении галоперидола и продолжительность вертикализации при введении апоморфина), холинергической (не влияло на продолжительность тремора после введения ареколина или никотина) и серотонинергической системами (не влияло на интенсивность гиперкинеза при введении 5-окситриптофана) (Таблица 19).

Таблица 19. Взаимодействие соединения TIM-2 с агонистами/антагонистами различных нейромедиаторных систем in vivo. Примечание: * – различия достоверны относительно группы «Контроль» при p<0,05 (критерий Данна); n – число животных в группе

Группа	n	Регистрируемый показатель
ГАМК-ергическая система		
Латентный период гибели при введении коразола, мин		
Контроль	10	20,0±2,3
TIM-2	8	34,4±6,6*
Латентный период гибели при введении пикротоксина, мин		
Контроль	10	12,1±0,8
TIM-2	8	23,0±2,7*
Дофаминергическая система		
Продолжительность каталепсии через 120 минут после введения галоперидола, с		
Контроль	10	105,3±5,1
TIM-2	8	109,9±3,9
Продолжительность апоморфиновой вертикализации, мин		
Контроль	10	35±2,2
TIM-2	8	35,8±1,8
Холинергическая система		
Продолжительность тремора, вызванного введением никотина, с		
Контроль	10	302,7±7,7
TIM-2	8	306,7±6,3
Продолжительность тремора, вызванного введением ареколина, с		
Контроль	10	502,8±9,2
TIM-2	8	504,1±8,6
Серотонинергическая система		
Среднее количество кивательных движений (гиперкинез), через 30 минут после введения 5-окситриптофана		
Контроль	10	17,0±1,0
TIM-2	8	15,8±1,6

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

6.2.2 Исследование молекулярного докинга тестируемых соединений

Для объяснения действия синтезированных соединений на ГАМК-эргическую систему был проведен их докинг к рецептору ГАМК (4ms4 для активированного сайта связывания и 4mqf для дезактивированного сайта из базы

данных RCSB) с использованием программного обеспечения AutoDock Vina. Использованные модели белка содержали в качестве лигандов молекулу баклофена в структуре 4ms4 и саклофена в структуре 4mqf. Для оценки корректности процедуры докинга были использованы оптимизированные модели баклофена и 2-гидроксисаклофена, в результате докинга которых расположение лигандов в сайте связывания белка, определенные при помощи РСА, практически полностью воспроизводилось (Рисунок 13).

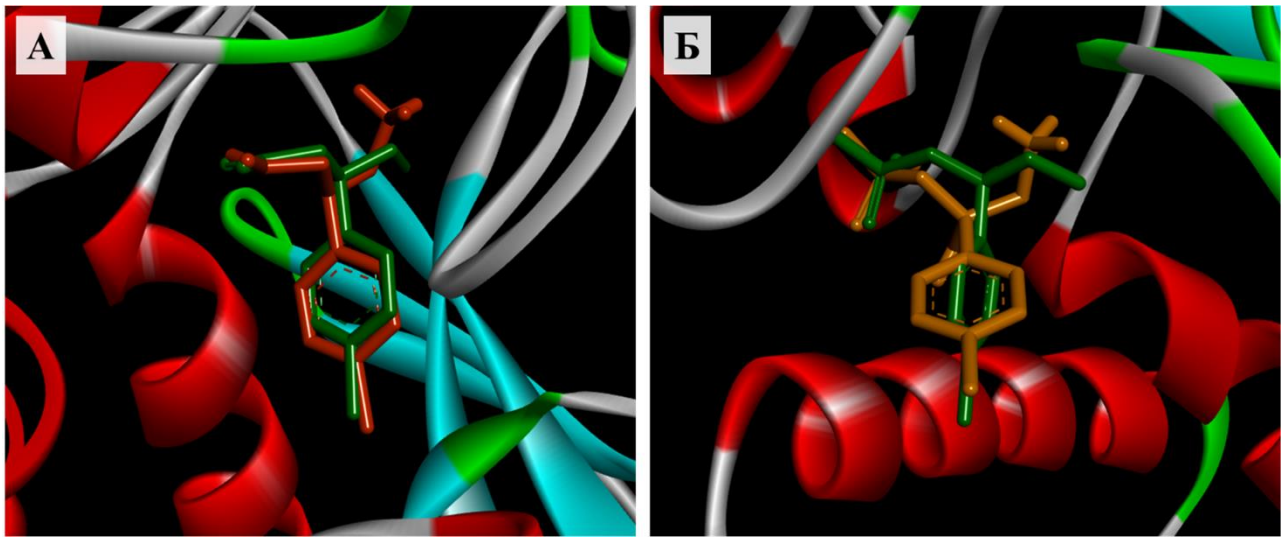
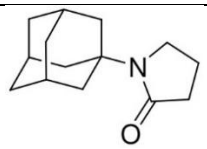
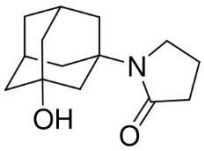
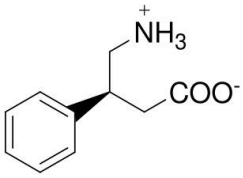
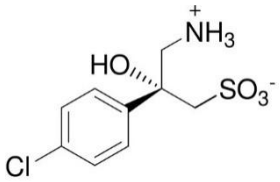


Рисунок 13 Расположение молекул баклофена в сайте связывания ГАМК рецептора 4ms4 (А), и 2-гидроксисаклофена в сайте 4mqf (Б), определенные экспериментально при помощи РСА экспериментов (зеленые) и при помощи докинга (оранжевые)

Молекулярный докинг тестируемых соединений выявил достаточно близкие энергии связывания, однако набор аминокислотных остатков, обеспечивающих нахождение лиганда в активном центре рецептора, оказался различным (Таблица 20).

Таблица 20. Результаты молекулярного докинга баклофена, 2-гидроксисаклофена и соединений TIM-2, IE-1, ANR-10 и TIM-3

Формула	Энергия связывания 4ms4, ккал/мол	Связанные аминокислотные остатки	Энергия связывания 4mqf, ккал/мол	Связанные аминокислотные остатки
 TIM-2	-6.2	TRP65 TRP278	-6.0	TRP65 CYS129 SER130 SER131
 IE-1	-6.5	TRP65 HIS170 TYR250 TRP278	-6.5	TRP65 CYS129 SER130 SER131 SER153
 (R)-фенибут	-8.4	TRP65 SER130 SER153 GLY151 PHE202 TYR250 ILE276 TYR279 GLU349	-5.8	SER153 ALA173 HIS176 VAL201 LEU248 TYR250 ILE276
 2-гидроксисаклофен	-8.0	TRP65 SER130 SER153 GLY151 PHE202 TYR250 ILE276 TRP278 TYR279 GLU349	-5.5	TRP65 SER130 GLY151 SER153 GLU349

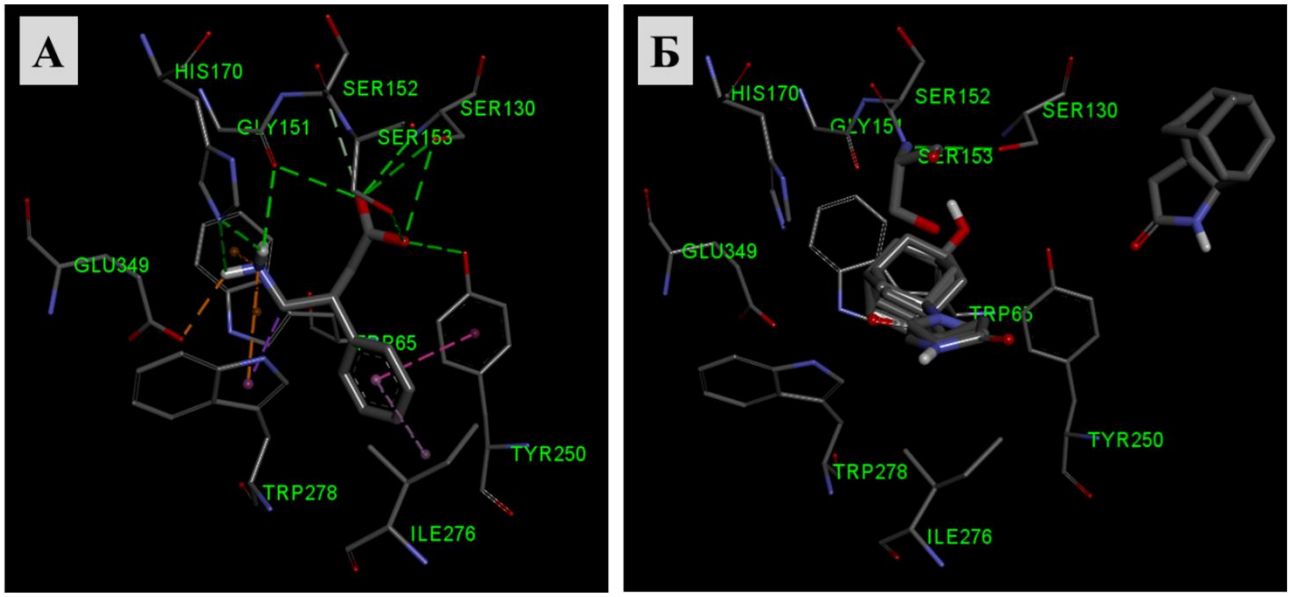


Рисунок 14 Карты связывания фенибута (А) и соединений TIM-2, IE-1, ANR-10 и TIM-3 в наложении (Б), полученные при помощи молекулярного докинга к ГАМК рецептору 4ms4

6.3 Заключение

Данные молекулярного докинга позволяют утверждать, что препарат сравнения фенибут и соединение ВКМ-22 обладают различным влиянием на ГАМК рецептор. Соединение ВКМ-22 конкурирует за рецептор с его антагонистами пикротоксином и коразолом уменьшая продолжительность ими вызванных судорог. Это позволяет считать, что антидепрессантный и анксиолитический эффект ВКМ-22 в определенной мере связан с ГАМК-ергической системой. Однако, препарат сравнения фенибут и соединения TIM-2, IE-1 и ANR-10 обладают похожим влиянием на рецептор, в то время как TIM-3 не связывается с сайтом ГАМК рецептора.

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Тревожные и депрессивные расстройства являются одними из самых распространённых психических заболеваний современности (Gutiérrez-Rojas L., et al., 2020), которые не только значительно снижают качество жизни, но и являются причиной развития сопутствующих соматических патологических процессов (Kapfhammer H. P., 2006) или значительно отягощает их течение, что способствует преждевременной инвалидизации населения (Reddy M. S., 2010). Всемирная Организация Здравоохранения фиксирует значительный рост распространения психических расстройств в современном обществе и делает неутешительные прогнозы о том, что если подобные тенденции роста будут сохранятся, то к 2025-2030 году депрессивные расстройства могут занять первенство среди причин, способствующих повышению смертности населения, опередив сердечно-сосудистые, онкологические и инфекционные заболевания (World Health Organization., 2021).

Другой, не менее важной с позиции встречаемости и социальным и медицинским последствиям являются когнитивные нарушения, в значительной степени связанные со старением населения и многими соматическими, эндокринными и другими заболеваниями (Lauren McCollum., et al., 2020). У пожилых больных с высокой частотой встречается сочетание деменции с тревожно-депрессивными и соматическими заболеваниями, что лежит в основе патологического круга, когда одно патологическое состояние, способствует развитию другого и наоборот. Например, депрессии могут быть первичным, но порождают развитие тревожных состояний, которые совместно могут негативно влиять на когнитивные функции и быть причиной развития соматических заболеваний (сердечно-сосудистых, гастроэнтеральных, гормональных и др.). В свою очередь соматические заболевания могут инициировать тревожно-депрессивные и иные патологические состояния (Kalin N. H., 2020).

Несмотря на то, что в настоящее время существует большой арсенал препаратов с психотропным действием, проблема фармакотерапии депрессии и

часто сопутствующих ей тревожных и когнитивных расстройств далеко не решена (Бурчинский С. Г., Демченко С. Г., 2016). Применение многих антидепрессантов, транквилизаторов, ноотропных средств не удовлетворяют врачей и пациентов, либо из-за нежелательных побочных эффектов, либо из-за низкой терапевтической активности. Курсовое применение большинства антидепрессантов приводит к положительному клиническому эффекту только у 65-75% больных. Также препараты данной группы обладают рядом существенных недостатков, к которым относится продолжительное наступление терапевтического эффекта, низкая широта и стойкость терапевтических эффектов, и высокие риски развития токсичных эффектов при передозировке (Michael P. H., 2020). Все вышеперечисленные аспекты подчеркивают актуальность в создании психотропных препаратов обладающих поливалентным действием, сочетающим антидепрессантную активность со способностью положительного влияния на интеллектуально-мнестические функции, имеющие более короткий латентный период формирования антидепрессантного эффекта, большей переносимостью и безопасностью (Steckler T., Risbrough V., 2012). Все отмеченное подчеркивает актуальность поиска новых и безопасных психотропных средств с поливалентным действием. Для этих целей часто используется гибридный подход, одно биологически активное вещество встраивается или соединяется с другим биологически активным веществом, что позволяет расширить и усилить спектр действия, снизить токсичность нового прототипа лекарственного средства. В нашем исследовании представлены соединения создававшиеся по данной концепции, когда за основу была взята ГАМК или альфа-пирролидон (циклический аналог ГАМК) и структура адамантана. Производные ГАМК и альфа-пирролидона обладают в отдельности широким спектром действия и как структура встречается во многих лекарственных препаратах и кандидатах в лекарство (Спасов А. А., и др., 2000; Lamoureux G., Artavia G., 2010; Wanka Q., et al., 2013; Klimochkin Yu. N., Shiryaev V. A., Leonova M.V., 2015; Spilovska K., et al., 2016; Štimac A., et al., 2017).

Введение структурного фрагмента адамантана в молекулы физиологически активных соединений во многих случаях увеличивает их биодоступность.

Фрагмент адамантана как привилегированная. Адамантилсодержащие аналоги противоэпилептического препарата габапентин AdGABA и GZ4 представляют собой структуру ГАМК жестко соединенное с адамантаном (Zoidis G., et al., 2005) применяющуюся для лечения нейропатических болей.

Соединения под лабораторным шифром ANR-03 и ANR-04 являющиеся право- и левовращающей (3)-3-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановой кислотой не оказывали влияния на психоэмоциональные состояния животных оцениваемое в тестах открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт, УРПИ и ТЭИ, данные полученные в вышеуказанных тестах значительно уступали группам животных получавших препарат сравнения Фенибут и не имели статистически значимых различий с контролем. Исследование связи между фармакологической активностью и оптической изомерией соединений позволило только подтвердить отсутствие фармакологической эффективности данной структуры и стало причиной исключения данных соединений ANR-03 и ANR-04 из дальнейшего исследования. Смещение адамантанового заместителя из «бета» в «гамма» положение ГАМК (ближе к аминогруппе) привело к получению соединения обладающего выраженным антидепрессантным действием, о чем свидетельствуют такие показатели как снижение продолжительности иммобилизации в тесте принудительного плаванья по Porsolt и подвешивания мышей за хвост (ПМХ) и поведение, направленное на избавление от аверсивной среды (прыжки, попытки взобраться по стенке). Продолжительность иммобилизации отражает выраженность поведенческого отчаянья, интерпретирующийся как состояние безысходности в период депрессии у человека (Alonso-Castro A. J., et al., 2019). Однако, невозможно заявлять о наличии антидепрессантной активности опираясь только на результаты, полученные в тестах поведенческого отчаянья. Известно, что группа психотропных препаратов обладающих психостимулирующей активностью приводит к ложноположительным результатам, а препараты обладающие анксиолитической активностью напротив, способны приводить к ложноотрицательным результатам, значительно увеличивая продолжительность иммобилизации относительно контрольной группы животных (Castagné V., Porsolt

R. D., 2009; Bogdanova. O.V., et al., 2013). Данные, полученные в тесте открытое поле и ПКЛ, свидетельствуют, что соединение **ВКМ-22** в дозе 14 мг/кг оказывало незначительное активирующее влияние на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность, что может быть следствием снижения тревожности животных и сохранения врожденного рефлекса исследования новой среды. Несмотря на влияние таких аверсивных сред, как открытое пространство и яркая освещенность, снижение уровня тревожности подтвердилось в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), животные чаще выходили в открытые рукава установки и дольше пребывали в них, активно совершая акты свешивания и перемещения между рукавами. В ПКЛ в качестве одного из препаратов сравнения использовался селективный ингибитор обратного захвата серотонина – флуоксетин.

Изучение анксиолитической активности **ВКМ-22** продолжилось с использованием методики конфликтной ситуации в варианте «Vogel», которая характеризуется более сильным влиянием аверсивной среды и внутренним конфликтом выбора между страхом и удовлетворением физиологических потребностей животного в сравнении с ПКЛ, так полученные данные могут свидетельствовать, что соединение **ВКМ-22** способствует снижению тревожности животных.

В неврологии, психиатрии и клинике внутренних болезней когнитивные нарушения в большинстве случаев сопровождаются, депрессивными и тревожными расстройствами (Бурчинский С. Г., Демченко Е. В., 2016). В последние годы дофаминергической системе уделяется важное место в развитии депрессивных состояний и действия некоторых антидепрессантов (Raupp-Barcaro I. F., et al., 2018). Поэтому заслуживает отдельного внимания антидепрессантные эффекты соединения ВКМ-22, сочетающие улучшение когнитивной функции, так как наличие таких свойств у препаратов с антидепрессантным действием повышают их терапевтический потенциал. Таким образом скрининговое исследование позволило выявить среди адамантановых производных ГАМК было

выявлено соединение лидер под лабораторным шифром ВКМ-22, обладающее выраженной антидепрессантной активностью и низкой токсичностью (LD50 2860±128 мг/кг). Для дальнейшей оценки терапевтического потенциала ВКМ-22 были выполнены дополнительные исследования на модели «социальной депрессии», как наиболее актуальной и приближенной к клинической практике и часто встречающейся в современной практике врача.

Данные, полученные в серии экспериментов, в которых изучалось взаимодействие с некоторыми веществами нейромедиаторного действия позволяют предполагать, что отмеченное психотропное действие соединения ВКМ-22 связано с его выраженным влиянием на дофаминергическую систему, так как исследуемое соединение снижало выраженность галоперидоловой каталепсии и повышало продолжительность апоморфиновой вертикализации, предположение о незначительном влиянии на ГАМК-ергическую систему было выявлено посредством снижения на фоне введения ВКМ-22 продолжительности коразоловых и пикротоксиновых судорог.

Исследуемое адамантановое производное ГАМК, при курсовом введении в условиях модели «социальной депрессии» существенно снижало проявление депрессивного синдрома сопоставимо с препаратом сравнения имипрамином (Александрович С. Д., и др., 2011), так в тестах «подвешивание мышей за хвост» (Галямина А. Г., и др., 2016) и «принудительное плаванье по Porsolt» (Галямина А. Г., и др., 2016) продолжительность иммобилизации животных снижалась сопоставимо в обоих группах, что демонстрирует сопоставимое снижение выраженности поведенческого отчаянья, указывающего на выраженность депрессивного состояния у исследуемых животных.

Способность взаимодействия с себе подобными является важным компонентом социального поведения и нормального развития индивида, проживающего в сообществе. Депрессивные состояния часто вызывают нарушения в коммуникативности (Александрович С. Д., и др., 2011), что негативно отражается на дальнейшем состоянии пациента. Так, животные, получающие исследуемое

соединение ВКМ-22, независимо от полученного негативного социального опыта поражений при взаимодействии с агрессором позволило им быть более коммуникабельными и социализированными с новым неизвестным партнером в сравнении с группой животных получавших имипрамин (Ясенявская А. Л., Хамидуллаевна М. В., 2017).

Опыт ежедневных негативных социальных конфронтаций приводит к изменению основных параметров поведения животных в приподнятом крестообразном лабиринте (Ясенявская А. Л., Хамидуллаевна М. В., 2017), который позволяет оценить выраженность уровня тревожности животных. Группа животных, получавших соединение ВКМ-22 большее количество времени проводило в открытых рукавах установки ($p=0,05$), совершали большее количество перемещений и поведенческих актов ($p=0,05$), что в сумме свидетельствует о более низком уровне тревожности животных получавших ВКМ-22 в сравнении с препаратом сравнения имипрамином.

Результаты, полученные в тесте «открытое поле» согласуются с данными полученными в тесте «ПКЛ», что в сумме свидетельствует о более эффективном снижении уровня тревоги и повышения уровня исследовательской активности у животных получавших ВКМ-22 в сравнении с препаратом сравнения имипрамином.

Исследуемое адамантановое производное ГАМК, соединение ВКМ-22, при курсовом введении животным с депрессий, вызванной 20 дневной социальной конфронтацией более выраженно, чем имипрамин подавляло депрессивные и тревожные проявления, что свидетельствует о высоком терапевтическом потенциале сопоставимо с имипрамином существенно снижало проявление депрессивного и тревожного синдрома.

Так анализ литературных данных позволил спрогнозировать высокую перспективность поиска среди адамантильных производных ГАМК и пирролидин-2-она соединений с выраженной психотропной и нейропротекторной активностью. Проведенное исследование подтвердило обоснованность поиска веществ с

анксиолитической, антидепрессантной и ноотропной активностью в ряду производных ГАМК. В рамках настоящей работы среди исследованных производных было выявлено соединение с высокой анксиолитической активностью в сочетании с антидепрессантным и ноотропным действием, представляющее собой 1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он (TIM-2). Анксиолитическая активность TIM-2 была выраженной как в условиях переменной стрессогенности (ПКЛ), так и в условиях конфликтной ситуации по Vogel и была сопоставима с таковой у референтного препарата фенибута и незначительно уступала таковой у сильного транквилизатора диазепама. Антидепрессантное действе TIM-2 было сопоставимо по выраженности с флуоксетином из группы СИОЗС, при оценке поведения отчаяния в условиях выученной беспомощности в двух тестах («Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание мышей за хвост»). Ноотропная активность TIM-2 была выявлена по положительному влиянию на процесс запоминания и воспроизведения обученного навыка в тестах УРПИ и ТЭИ. Для уточнения возможного механизма действия соединения-лидера было проведено исследование взаимодействия с рядом нейромедиаторных систем головного мозга in vivo, в ходе которого было выявлено выраженное влияние TIM-2 на ГАМК-ергическую систему (при введении коразола и пикротоксина), а данные молекулярного докинга также подтверждают возможное взаимодействие TIM-2 с системой ГАМК.

Также было выделено соединение с психостимулирующей, антидепрессантной и умеренной анксиолитической активностью – 1-(3-гидроксиадамантан-1-ил)пирролидин-2-он (IE-1).

Введение адамантильного заместителя в 4-е положение пирролидона привело к получению вещества с низкой психотропной активностью (ANR-10). Каркасное соединение под лабораторным шифром TIM-3 (3aS*, 10aS*)-декагидро-4,8:6,10-диметаноциклонон[b]пиррол-2(1H)-он) также не проявляло психотропной активности во всех используемых поведенческих моделях.

Различное влияние соединений на ГАМК-систему вероятно вызвано их различным взаимодействием с ГАМК рецептором. В статье (Yong G., et al., 2013) описано исследование связывания ряда соединений с ГАМК-В рецептором при помощи метода РСА. Исследование показало, что связывание лигандов данного рецептора осуществляется при помощи ряда взаимодействий с аминокислотными остатками серинов 130 и 153, гистидина 170, глутаминовой кислоты 349. Однако, наиболее значимыми являются взаимодействия с триптофанами 65 и 278, поскольку именно они вызывают перестройку третичной структуры рецептора. Сравнение карт связывания тестируемых соединений показывает, что соединения TIM-2, IE-1, ANR-10, фенибут и баклофен образуют контакты с ключевыми аминокислотами, в то время как TIM-3 не удерживается в сайте связывания ГАМК рецептора и по всей видимости не оказывает влияния на ГАМК-эргическую систему.

Учитывая широкое распространение у населения тревожно-депрессивных расстройств, сочетающихся с дементными нарушениями, наличие у соединения TIM-2 антидепрессантной, анксиолитической и ноотропной активности может свидетельствовать о его терапевтическом потенциале. Было отмечено, что анксиолитическая активность соединения TIM-2 не сопровождается амнезирующим действием, в отличие от диазепама.

Эмпирические данные указывают на кризис производительности у ведущих фармакологических компаний. Количество введенных в оборот лекарственных средств, содержащих потенциально новые лекарственные структуры, составляло около 60 препаратов в 1980 году, 52 в 1991 году и 30 препаратов в 2001 году, подобные тенденции сохраняются и в наше время. Необходимо обратить внимание, что процедура сознания нового лекарственного средства включает в себя множество этапов как на стадии доклинических, так и клинических исследований, в сумме это достаточно продолжительный процесс, сопровождающийся рискованными инвестициями в проект. В связи с этим дальнейшее исследование

соединения ТIМ-2 нецелесообразно, так как оно не обладало активностью превосходящей препараты сравнения, а также обладало большей токсичностью.

Зачем же нужны новые антидепрессанты? Существующие препараты данной группы имеют целый ряд серьезных побочных эффектов, что является основной причиной ограничения их использования. ТЦА обладают антихолинергическим, антигистаминным и альфа-адреноблокирующим действием, в то время как ИМАО потенциально взаимодействуют с пищевыми аминами и некоторыми другими лекарственными средствами, формируя смертельно опасные осложнения. Парадоксально, что на фоне вышеперечисленных проблем с фармакотерапией и значительного роста числа депрессивных расстройств среди населения, эффективность существующей фармакотерапии недостаточно. Последние исследования в данном направлении с громкими заявлениями о создании нового класса антидепрессантов немного искажают картину происходящего, так в Австралии в 2020 году были проданы 4 новых антидепрессанта из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина и селективных обратимых ингибиторов моноаминоксидазы-А, однако более углубленное погружение в проблему позволяет выявить, что эти препараты не являются новыми. В первом случае это процесс переосмысления препарата из группы СИОЗС – флуоксетина, патент на который в ближайшее время будет закрыт, а во втором случае препараты исследуются уже с 1983 года.

В связи с этим наиболее перспективным предполагается дальнейшее исследование соединения ВКМ-22, которое превосходило по антидепрессантной активности трициклический антидепрессант (имипрамин), иной механизм реализации антидепрессантного действия у нового соединения ВКМ-22 позволит избежать характерных для ТЦА побочных эффектов. Проведенный целый ряд клинических исследований различных классов антидепрессантов не позволил выявить какой-либо общий механизм действия, однако, большое количество полученных данных указывает на прямую или косвенную сенсибилизацию антидепрессантов с D-2 дофаминовыми рецепторами в мезолимбической

дофаминовой системе, что в целом может представлять «общий путь» реализации антидепрессантного действия. Одним из примеров является доказательство влияния на дофаминергическую систему не только ТЦА, но и препаратов из группы СИОЗС (Willner P., Hale A. S., Argyropoulos S., 2005) что подчеркивает целесообразность поиска новых антидепрессантов реализующих свой эффект посредством дофаминергической системы и позволит снизить эффективную дозу которую пациенты вынуждены принимать на протяжении длительного периода времени, а также сократить количество побочных и нежелательных эффектов за счет большей селективности и избирательности действия и предсказуемости поведения лекарственного средства в организме пациента в зависимости от различных ситуаций. Также ВКМ-22 не оказывало негативного влияния на когнитивные функции, не обладало аддиктивным потенциалом и обладало более низкой токсичностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Адамантановые производные ГАМК и альфа-пирролидона являются новыми перспективными группами веществ. Учитывая фармакологическую активность производных адамантана и ГАМК, которая широко освещена в литературе, предполагалось целесообразным изучение антидепрессантной и анксиолитической активности у ряда оригинальных адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона.

При первичном поиске веществ с нейропсихотропной активностью среди 7 адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона (ВКМ-22, ANR-03,04,10, IE-1, TIM-2 и TIM-3), синтезированных на кафедре органической химии Самарского государственного технического университета (СамГТУ) под руководством Ю.Н Климочкина, были выделены соединения, проявляющие выраженную психотропную активность в тестах Открытое поле, Приподнятый крестообразный лабиринт, УРПИ и ТЭИ. Наиболее выраженную антидепрессантную, противотревожную и ноотропную активность проявили адамантановое производное ГАМК – ВКМ-22 и адамантановое производное альфа-пирролидона – TIM-2, которые были выбраны для дальнейшего углубленного исследлвания. Остальные 5 соединений показали менее выраженный уровень психотропной активности.

Углубленное изучение психотропных свойств соединений-лидеров было проведено на животных с экспериментальной депрессией, вызванной социальной конфронтацией и животных с экспериментальным нарушением мозгового кровообращения. В проведенном исследовании было выявлено, что адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) проявляло выраженое антидепрессантное, анксиолитическое, ноотропное действие и повышало социализацию животных в обоих патологических состояниях, превышая по терапевтическому эффекту в условиях социальной депрессии референтный препарат имипрамин, а у животных с экспериментальным НМК референтные препараты флуоксетин и фенибут. Адамантановое производное альфа-пирролидона (TIM-2) проявило менее

выраженный терапевтический эффект в условиях социальной депрессии, но у животных с экспериментальным НМК оказало выраженную антидепрессантную, противотревожную и ноотропную активность.

При проведении фармакологического анализа взаимодействия соединений-лидеров с некоторыми агонистами/антагонистами различных нейромедиаторных систем было показано, что адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22), которое проявило выраженный терапевтический эффект в условиях социальной депрессии и при НМК обладает полимодальным механизмом действия. Так, по результатам тестов с апоморфином и галоперидолом был доказан дофаминергический механизм реализации антидепрессантного действия. В результате снижения продолжительности судорог, вызванных введением коразола и пикротоксина также было доказано влияние соединения ВКМ-22 на ГАМК-ергическую систему. Адамантановое производное альфа-пирролидона (TIM-2), которое было менее активно в условиях социальной депрессии, по результатам фармакологического анализа оказало влияние только на ГАМК-ергическую систему.

Изучение острой токсичности исследуемых соединений позволило выявить, что LD_{50} для ВКМ-22 и TIM-2 при однократном пероральном введении составляет 2860±128 и 1820±205 мг/кг соответственно, данный показатель превосходит по степени безопасности у референтных препаратов. Найденная опытным путем доза LD_{50} относит изучаемые соединения к малотоксичным веществам [ГОСТ 12.1.007-76, 1976], при этом адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) с учетом эффективной дозы 11 мг/кг обладало более широким терапевтическим диапазоном.

Таким образом, в результате исследования психотропной активности ряда адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона было выявлено низкотоксичное соединение ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота), которое последством влияния на дофамин- и ГАМК-ергическую систему проявляло анксиолитическую, антидепрессантную и ноотропную активность у интактных животных, а также в условиях экспериментальной депрессии и при нарушении мозгового кровообращения. Полученные данные свидетельствуют о

целесообразности дальнейшего углубленного изучения его терапевтического потенциала с целью разработки нового лекарственного препарата для лечения тревожно-депрессивных и когнитивных расстройств.

ВЫВОДЫ

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

2. Адамантановые производные ГАМК и альфа-пирролидона при однократном пероральном введении обладают низкой токсичностью (LD_{50} составляло 2860±128 мг/кг и 1820±205 мг/кг для ВКМ-22 и TIM-2 соответственно).

3. Адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) обладает выраженной антидепрессантной активностью при курсовом введении в условиях социальной депрессии. Антидепрессантное действие ВКМ-22 было сопоставимо с таковым у имипрамина, но при этом соединение ВКМ-22 также способствовало снижению выраженности тревоги и повышению уровня социализации животных.

4. У животных, с экспериментальной ишемией головного мозга, курсовое введение адамантанового производного ГАМК (ВКМ-22) и альфа-пирролидона (TIM-2) выраженно снижали сенсорно-моторные, тревожно-депрессивные, когнитивные нарушения и способствовали повышению социализации животных.

5. Адамантановое производное ГАМК (ВКМ-22) реализует свои фармакологические эффекты посредством стимулирующего влияния на дофамин- и ГАМК-ергическую систему, а адамантановое производное альфа-пирролидона (TIM-2) реализует свои эффекты посредством стимулирующего влияния на ГАМК-ергическую систему.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно продолжить дальнейший поиск соединений с различными психотропных свойствами в ряду адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона с различными заместителями.

Соединение ВКМ-22 (4-(адамантан-1-ил)-4-аминобутановая кислота) и ТIМ-2 (1-(адамантан-1-ил)пирролидин-2-он) являются перспективными для дальнейшего углубленного изучения, с целью разработки на его основе лекарственного средства, обладающего антидепрессантным, противотревожным и ноотропным действием.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

COVID-19 – COronaVIrus Disease 2019

АД – антидепрессант

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГАМК – гамма-аминомаслянная кислота

ГМ – головной мозг

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ДА – двигательная активность

ЕС – Европейский Союз

ЗР – закрытый рукав

ЛО – ложно оперированные

ЛП – латентный период

МАО-А – моноаминоксидаза

МКБ – международная классификация болезней

НМК – нарушение мозгового кровообращения;

ОИА – ориентировочно-исследовательская активность

ООН – Организация Объединённых Наций

ОП – открытое поле

ОР – открытый рукава

ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт

ПМХ – подвешивание мышей за хвост

РФ – Российская Федерация

СИОЗН – Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина

СИОЗС – селективный ингибитор обратного захвата серотонина

СИОЗСиД – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и дофамина

СО – светлый отсек

ССА- специфические серотонинергические антидепрессанты

США – Соединенные Штаты Америки

ТО – темный отсек

ТЦА – трициклический антидепрессант

ТЭИ – тест экстраполяционного избавления

УРПИ – условная реакция пассивного избегания

ХНМК – хроническое нарушение мозгового кровообращения

ЦНС – центральная нервная система

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрович, С.Д. Влияние кломипрамина на тревожно-депрессивное состояние, вызванное хроническим социальным стрессом у самцов мышей / С.Д. Александрович Н.Н. Кудрявцева, Н.П. Бондарь [и др.] // Психофармакология и биологическая наркология. – 2011. Т.11(1). – С. 2666-2676.

2. Берестовицкая, В.М. Рацетамы: методы синтеза и биологическая активность. / В.М. Берестовицкая, И.Н. Тюренков, О.С. Васильев [и др] // Монография. – 2016. – С.287

3. Бурчинский, С.Г. Инновации в стратегии фармакотерапии ранних стадий когнитивных расстройств / С.Г. Бурчинский, Е.В. Демченко // Международный Неврологический Журнал. – 2016. Т.6(84). – С.85-90.

4. Васильева, А.В. Психические нарушения, связанные с пандемией COVID-19 (международный опыт и подходы к терапии) / А.В. Васильева // Журнал Неврологии И Психиатрии Им. С.с. Корсакова. - 2020. – № 9 – С.121-129.

5. Волотова, Е.В. Нейропротекторное действие фенибута и нейроглутама при экспериментальной ишемии головного мозга на фоне измененной иммунореактивности /Е.В. Волотова, И.С. Филина, Д.А. Бакулин, Д.В. Куркин, И.Н. Тюренков // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2016ю – Т.79(4)ю – С.18-25.

6. Воронина Т.А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ /Т.А. Воронина, Р.У. Островская // Издательство “Медицина,” - 2005. - С.308–320.

7. 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

8. Воронина, Т. А. Перспективы развития современных анксиолитиков / Т.А. Воронина //Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 7. – №. 4. – С. 1-1645–1-1645.

9. Галямина, А.Г. Ввзаимосвязь депрессии и тревожности в развитии смешанного тревожно/депрессивного расстройства. экспериментальное исследование механизмов коморбидности (обзор) / А.Г. Галямина, И.Л. Коваленко, Д.А. Смагин, Н.Н. Кудрявцева, // журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2016. – Т.66. - №2. – С.181.

10. Горина, Я.В. Поведенческий фенотипический анализ животных с генетической моделью болезни Альцгеймера / Я.В. Горина, Ю.К. Комлева, О.Л. Лопатина, А.И. Черных [и др.] // Биомедицина – 2017. - №3. С.47-59.

11. Жукова, О.А Медико-социологическая интерпретация психического здоровья / О.А. Жукова, Д.Д. Карелина, И.Л. Кром, Ю.Б. Барыльник // Известия Саратовского университета – 2011 – Т.11(1). – С.30-35.

12. Куркин, Д.В. Коррекция психоневрологических проявлений алкогольного похмелья у крыс ацетилцистеином / Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Л.П. Кнышова [и др.] // Фармация и фармакология. – 2019. Т.7(5). – С.291-299.

13. Лебедев, А.А. Нейробиологические механизмы и фармакология подкрепляющих систем мозга // дисс…докт. мед. наук. – 2002. – С.300.

14. Литвин, Е. А. Биотрансформация и фармакокинетика производных адамантана / Е.А. Литвин, Г.Б Колыванов, В.П. Жердев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2012. - №.1. – С. 18-24.

15. Медведев, В.Э. COVID-19 и психическое здоровье: вызовы и первые выводы / В.Э. Медведев, О.А. Доготарь // Неврология, Нейропсихиатрия, Психосоматика. - 2020. Т.12. - № 6.

16. Медведев, В.Э. Тревожные расстройства в условиях пандемии COVID-19 / В.Э. Медведев // Поликлиника. – 2020 - №6. – С.20–24.

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

18. Сергеева, Н.М. Статистическая оценка показателей состояния психического здоровья в России / Н.М. Сергеева // Региональный вестник. – 2020. – № 4(43). – С.87-89

19. Скотникова, И.Г. Опрос о психологических особенностях переживания неопределенности при пандемии covid-19 / И.Г. Скотникова, П.И. Егорова, Ю.Л. Дубинская, Л.С. Жиганов // Социальная и экономическая психология. - 2020. Т.5. - №2. – С.18.

20. Стаценко, О.А. Клинический случай острого транзиторного психоза на фоне пандемии COVID-19 / О.А. Стаценко // Омский Психиатрический Журнал. - 2020. - №2.- С1-24.

21. 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.

22. Тюренков, И.Н. Функциональные аспекты нейропротективного действия новых солей и композиций баклофена при судорожном синдроме, вызванном электрошоком / И.Н. Тюренков, Л.Е. Бородкина, В.В. Багметова // Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медициныю – 2012 Т.153. №5. С.667-670

23. Хаунина, Р.А. Фенибут — новый транквилизатор. / Р.А. Хаунина, Лапин И.П. // Хим.-фарм. Журнал. - 1976. - № 12. - С. 125-127.

24. Шматова, Ю.В. Динамика статистических и социологических показателей состояния психического здоровья населения России / Ю.В. Шматова // Проблемы развития территории. – 2019. - №3(101). – С.76-96.

25. Шматова, Ю.Е. Влияние COVID-19 на психическое здоровье населения (как показатель человеческого потенциала): опыт зарубежных исследований / Ю.Е. Шматова // Проблемы Развития Территории. - 2020. - № 4.- С. 108.

26. Ясенявская, А.Л. "социальный" стресс как модель оценки эффективности новых стресс-протекторов / А.Л. Ясенявская, М.В. Хамидуллаевна // Астраханский медицинский журнал – 2017. – Т.12(2). – С. 23-35.

27. Abramets, I.I. Piracetam potentiates neuronal and behavioral effects of ketamine / I.I. Abramets, Yuriy V. Kuznetsov, Dmitriy V. Evdokimov, Tamara O. Zayka [et al.] // Research Results in Pharmacology. Belgorod National Research University. 2019.- Vol.5(2) - P.49-55.

28. Ahnert-Hilger, G. Synaptobrevin is essential for secretion but not for the development of synaptic processes / U. Kutay, I. Chahoud, B. Wiedenmann // Eur. J. Cell Biol. - 1996. - Vol.70(1). - P.1–11

29. Ahuja,T. Phenibut (β-Phenyl-γ-aminobutyric Acid) Dependence and Management of Withdrawal: Emerging Nootropics of Abuse / Ofole Mgbako, Caroline Katzman, Allison Grossman / T. Ahuja, Ofole Mgbako, Caroline Katzman, Allison Frossman // Case Rep Psychiatry. - 2018. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29854531/

30. Albert, P.R. Is poststroke depression the same as major depression? / P.R. Albert // J Psychiatry Neurosci. - 2018. - Vol.43(2). - P.76–77.

31. Allen, R.M. Amantadine reduces haloperidol-induced dopamine receptor hypersensitivity in the striatum / R.M. Allen, J.D. Lane, J.T. Brauchi // Eur. J. Pharmacol. - 1980. - Vol.65(3). - P.313–315.

32. Alonso-Castro, A.J. Neuropharmacological effects of d-pinitol and its possible mechanisms of action / A.J Alonso-Castro, Clara Alba-Betancourt, Erik Rocha-González, Alberto Ruiz-Arredondo [et al.] // J. Food Biochem. - 2019. - Vol.43(12). – e.13070.

33. Amber E, Faquih. A Review of Novel Antidepressants: A Guide for Clinicians / Amber E Faquih, Raheel I Memon, Hudaisa Hafeez [et al.] // Cureus. – 2019. – Vol.11(3). – e.4185.

34. Anderson, I.M. SSRIS versus tricyclic antidepressants in depressed inpatients: a meta-analysis of efficacy and tolerability / I.M. Anderson // Depress Anxiety. - 1998. - Vol.7(1). - P.11–17.

35. Araújo R. Amantadine Treatment for People with COVID-19 / R. Araújo, J.D. Aranda-Martínez, G.E. Aranda-Abreu, José Dolores Aranda-Martínez // Arch Med Res.- 2020. - Vol. 51(7). - P.739–740.

36. Astuti, P. Depression and functional disability in stroke patients / P. Astuti, K. Kusnanto, F. Dwi Novitasari // J Public Health Res. - 2020. - Vol.9(2) – e.1835.

37. Atmaca, M. Selective Serotonin Reuptake Inhibitor-Induced Sexual Dysfunction: Current Management Perspectives / M. Atmaca // Neuropsychiatr Dis Treat. - 2020. - Vol.16 - P.1043–1050.

38. Baldessarini, R.J. Bipolar depression: a major unsolved challenge / R.J. Baldessarini, G.H. Vázquez, L. Tondo // Int J Bipolar Disord. – 2020. – Vol.8. ISSN: 2194-7511 (electronic).

39. Baumeister, R.F. The need to belong: desire for interpersonal attachments as a fundamental human motivation / R.F. Baumeister, M.R. Leary // Psychol Bull. - 1995. - Vol.117(3). - P.497–529

40. Beeder, L.A. Effect of antidepressant medications on semen parameters and male fertility / L.A. Beeder, M.K. Samplaski // Int J Urol. - 2020. - Vol.27(1). - P. 39–46.

41. Bhattacharya, S.K. Anxiolytic activity of piracetam, a nootropic agent, following subchronic administration in rodents / S.K. Bhattacharya, S.N. Upadhyay, A.K. Jaiswal, A.P. Sen // Indian J Exp Biol. - 1993. - Vol.31(11). – P.902–907.

42. Bogdanova, O.V. Factors influencing behavior in the forced swim test / O.V. Bogdanova, S. Kanekar, Kristen E D'Anci, Perry F Renshaw // Physiol. Behav. - 2013. - Vol.118. - P.227–239

43. Boonstra, E. Neurotransmitters as food supplements: the effects of GABA on brain and behavior. / E. Boonstra, Roy de Kleijn, Lorenza S. Colzato [et al.] // Front Psychol. – 2015. – Vol.6 - e.1520

44. Bouet, V. The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice / V. Bouet, M. Boulouard, J. Toutain [et al.] // Nat Protoc. – 2009. - №4(10). – P.1560-1564.

45. Bound, J. Playing the Admissions Game: Student Reactions to Increasing College Competition / J. Bound, B. Hershbein, B.T. Long // J Econ Perspect. - 2009. - Vol.23(4). - P.119–146.

46. Brailovskaia, J. The association between depression symptoms, psychological burden caused by Covid-19 and physical activity: An investigation in Germany, Italy, Russia, and Spain / J. Brailovskaia, R. Herrero, RM. Baños, Y. Krasavtseva [et al.] // Psychiatry Res. - 2021. - Vol.295. - e.113596

47. Bruggerman, C. Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Toxicity /C. Bruggerman, C.S. O'Day // National Library of Medicine – 2020. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30521236/

48. Bueno-Notivol, J. Prevalence of depression during the COVID-19 outbreak: A meta-analysis of community-based studies / J. 48. Bueno-Notivol, Patricia Gracia-Garcíaac, Beatriz Olayabc, Isabel Lasheras [et al.] // Int J Clin Health Psychol. - 2021. - Vol.21, - № 1. - e.100196

49. Cacioppo, J.T. Alone in the Crowd: The Structure and Spread of Loneliness in a Large Social Network. / J.T. Cacioppo, J.H. Fowler, N.A. Christakis // J Pers Soc Psychol. - 2009. - Vol.97(6). - P.977–991

50. Caeiro, L. Depression in acute stroke / L. Caeiro, José M. Ferro, Catarina O. Santos, M. Luísa Figueira // J Psychiatry Neurosci. - 2006. - Vol.31(6). - P.377–383.

51. Cao, Q. The Prevalence of Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis / Chen-Chen Tan, Wei Xu, Hao Hu [et al.] // J Alzheimers Dis. – 2020. - Vol.73(3). - P.1157–1166.

52. Cartwright, C. Long-term antidepressant use: patient perspectives of benefits and adverse effects / C. Cartwright, Kerry Gibson, John Read [et al.] // Patient Prefer Adherence. 2016. Vol. 10. P. 1401–1407.

53. Castagné, V. Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse / V. Castagné, R.D. Porsolt, P. Moser // Eur. J. Pharmacol. - 2009. - Vol.616(1–3). - P. 128–133

54. Chand, S.P. Depression / S.P. Chand, H. Arif // StatPearls. Treasure Island. – 2020. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430847/#_NBK430847_pubdet

55. Chang, C. Amantadine / C. Chang, K. Ramphul // StatPearls Publishing – 2021. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763128/

56. Chaouloff, F. Social stress models in depression research: what do they tell us? / F. Chaouloff // Cell Tissue Res. - 2013. - Vol.354(1). - P.179–190.

57. Chhabra, N. A review of drug isomerism and its significance / N.A. Chhabra, M.L. Aseri, D. Padmanabhan // Int J Appl Basic Med Res. - 2013. - Vol.3(1). - P.16–18

58. Cortés-Borra, A. Amantadine in the prevention of clinical symptoms caused by SARS-CoV-2 / A. Cortés-Borra, G.E. Aranda-Abreu // Pharmacol Rep. - 2021. - P.1–4

59. Dambrova M. Comparative pharmacological activity of optical isomers of phenibut / M. Dambrova, Liga Zvejniece, Edgars Liepinsh, Helena Cirule [et al.] // Eur. J. Pharmacol. - 2008. - Vol.583(1). - P.128–134.

60. Daphne, V. Management of Treatment-Resistant Depression: Challenges and Strategies / V. Daphne, Zafiris J Daskalakis, Daniel M Blumberger // Neuropsychiatr Dis Treat. – 2020. – Vol.16. – P.221-234.

61. De Picker, L. Antidepressants and the risk of hyponatremia: a class-by-class review of literature / L. De Picker, Filip Van Den Eede, Glenn Dumont, Greta Moorkens, Bernard G C Sabbe // Psychosomatics. - 2014. - Vol.55(6). - P.536–547

62. Dmitriev, A.V. [The spectrum of analgesic activity of baclofen and tolibut] / A.V. Dmitriev, N.I. Andreev // Farmakol Toksikol. 1987. Vol. 50, № 1. P. 24–27.

63. Docherty, J.R. Pharmacology of stimulants prohibited by the World Anti-Doping Agency (WADA) / J.R. Docherty, // Br J Pharmacol. - 2008. - Vol. 154(3). - P.606–622.

64. Ettcheto, M. Benzodiazepines and Related Drugs as a Risk Factor in Alzheimer's Disease Dementia / M. Ettcheto, Jordi Olloquequi, Elena Sánchez-López, Oriol Busquets [et al.] // Front Aging Neurosci. - 2019. - Vol.11. - P.344

65. Feighner, J.P. Mechanism of action of antidepressant medications / J.P. Feighner // J Clin Psychiatry. - 1999. - Vol.60(4). - P. 4–11.

66. Ferguson, J.M. SSRI Antidepressant Medications: Adverse Effects and Tolerability / J.M. Ferguson // Prim Care Companion J Clin Psychiatry. - 2001. - Vol.3(1). - P.22–27.

67. Gaebel, W. Changes from ICD-10 to ICD-11 and future directions in psychiatric classification / W. Gaebel, J. Stricker, A. Kerst // Dialogues Clin Neurosci. – 2020 – Vol.22(1). – P.7-15.

68. Gallagher, M.W. The Impact of Covid-19 Experiences and Associated Stress on Anxiety, Depression, and Functional Impairment in American Adults / M.W. Gallagher, Michael J. Zvolensky, Laura J. Long. [et al.] // Cognit Ther Res. - 2020. - P.1–9.

69. Garakani, A. Pharmacotherapy of Anxiety Disorders: Current and Emerging Treatment Options / A. Garakani, James W. Murrough, Rafael C. Freire [et al.] // Front Psychiatry. - 2020. - Vol.11. – P.21

70. Gentile, S. Tricyclic antidepressants in pregnancy and puerperium / S. Gentile // Expert Opin Drug Saf. - 2014. - Vol.13(2). - P.207–225.

71. Ghanavatian, S. Baclofen. / S. Ghanavatian, A. Derian // StatPearls Publishing. – 2021. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526037/#_NBK526037_pubdet

72. Ghossein, N. Anticholinergic Medications /N. Ghossein, M. Kang, A.D. Lakhkar // StatPearls Publishing. – 2021. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555893/

73. Gilbert, P. Evolution and depression: issues and implications /P. Gilbert // Psychol Med. - 2006. - Vol.36(3). - P.287–297.

74. Goldstein, B.J. Selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of affective disorders--III. Tolerability, safety and pharmacoeconomics / B.J. Goldstein, P.J. Goodnick // J. Psychopharmacol. (Oxford). - 1998. - Vol.12(3). - P.55-87.

75. Göthe, F. Cerebrovascular diseases and depression: epidemiology, mechanisms and treatment / F. Göthe, D Enache., L Wahlund, B Winblad [et al.] // Panminerva Med. – 2012.- Vol. 54(3). - P. 161–170.

76. Grefkes, C. Recovery from stroke: current concepts and future perspectives / Gereon R Fink / C. Grefkes, Gereon R. Fink // Neurol Res Pract. - 2020. - Vol.2. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33324923/

77. Guo, S. Comparative risk of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs)-induced nausea among Chinese senile depression patients. / Shengyu Guo, Yan Yang, Xi Jun Pei, Fei Yue Liu // Medicine (Baltimore). – 2020. – Vol.99(7) – e.19133.

78. Gutiérrez-Rojas, L. Prevalence and correlates of major depressive disorder: a systematic review / L. Gutiérrez-Rojas, Alejandro Porras-Segovia, Henry Dunne, Nelson Andrade-González [et al.] // Braz J Psychiatry. - 2020. - Vol. 42(6). - P.657–672.

79. Hardman, M.I. Acute phenibut withdrawal: A comprehensive literature review and illustrative case report / M.I. 79. Hardman, J. Sprung, T.N. Weingarten // Bosn J Basic Med Sci. - 2019. - Vol.19(2). - P.125–129.

80. Hasanagic S. Potential role of memantine in the prevention and treatment of COVID-19: its antagonism of nicotinic acetylcholine receptors and beyond / S. Hasanagic, F. Serdarevic // Eur Respir J. - 2020. - Vol.56(2) – e.2001610.

81. He, H. Trends in the incidence and DALYs of schizophrenia at the global, regional and national levels: results from the Global Burden of Disease Study 2017 / Qingqing Liu, Ning Li, Liyang Guo [et al] // Epidemiol Psychiatr Sci. - 2020. - Vol.29 – 13;29:e91

82. Hepsomali, P. Effects of Oral Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Administration on Stress and Sleep in Humans: A Systematic Review / P. Hepsomali, John A Groeger, Jun Nishihira, Andrew Scholey // Front Neurosci. - 2020. - Vol.14 – e.923

83. Horwitz, A.V. How an Age of Anxiety Became an Age of Depression / A.V. Horwitz // Milbank Q. - 2010. - Vol.88(1). - P.112–138.

84. Hoying, J. Prevalence and Correlates of Depression, Anxiety, Stress, Healthy Beliefs, and Lifestyle Behaviors in First-Year Graduate Health Sciences Students / J. Hoying, Bernadette Mazurek Melnyk, Elizabeth Hutson, Alai Tan // Worldviews on Evidence-Based Nursing. - 2020. Vol.17(1). - P.49–59.

85. Hsing, S.C. Is Agomelatine Associated with Less Sedative-Hypnotic Usage in Patients with Major Depressive Disorder? A Nationwide, Population-Based Study / S.C. Hsing, N.S. Tzeng, C.H. Chung, T.Y. Chen [et al.] // Neuropsychiatr Dis Treat. - 2020. - Vol.16. - P.1727–1736.

86. Iarkova M.A. Studying the mechanisms of ladasten action / M.A. Iarkova, M.V. Voronin, S.B. Seredenin [et al.] // Eksp Klin Farmakol. - 2005. - Vol.68(3). - P.3–6.

87. InformedHealth.org. Depression: How effective are antidepressants? / Cologne, Germany: Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). – 2020. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK361016/

88. Izyaslav Lapin. Phenibut (β-Phenyl-GABA): A Tranquilizer and Nootropic Drug / I. Lapin // CNS Drug Rev. – 2006. – Vol.7(4). – P. (471-481).

89. Jeffrey S. Barker. Regulation of GABAA Receptor Subunit Expression in Substance Use Disorders / S. Jeffrey, Rochelle M. Hines // International Journal of Molecular Sciences. 2020. – Vol.21(12). e.4445

90. Jembrek, M.J. GABA Receptors: Pharmacological Potential and Pitfalls / M.J. Jembrek, J. Vlainic // Curr. Pharm. Des. - 2015. - Vol.21(34). - P.4943–4959

91. Jenkins, R. Integrating mental health into primary care in Sverdlovsk / R. Jenkins, David Goldberg, Alla G Zacroeva, Angelina Potasheva // Ment Health Fam Med. - 2009. - Vol.6(1). - P.29–36.

92. Jewett, B.E. Physiology, GABA / S. Sharma // StatPearls Publishing – 2021. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30020683/

93. Jiao, Y. Neuroregeneration and functional recovery after stroke: advancing neural stem cell therapy toward clinical application / Y. Jiao, Yu-Wan Liu, Wei-Gong Chen, Jing Liu // Neural Regen Res. - 2020. - Vol.16(1). - P.80–92.

94. Jiménez-Jiménez, F.J. Anti-Inflammatory Effects of Amantadine and Memantine: Possible Therapeutics for the Treatment of Covid-19? / F.J. Jiménez-Jiménez, Hortensia Alonso-Navarro, Elena García-Martín, José A G Agúndez // J Pers Med. - 2020. - Vol.10(4) – e217.

95. Juang, H.T. Using antidepressants and the risk of stroke recurrence: report from a national representative cohort study / H.T. Juang, P.C. Chen, L.L. Chien // BMC Neurology. – 2015. – Vol.15(1).-.P.86

96. Kalin, N.H. The Critical Relationship Between Anxiety and Depression / N.H. Kalin // Am J Psychiatry – 2020. – Vol.177(5). – P.365-367

97. Kapfhammer, H.-P. Somatic symptoms in depression / H.P. Kapfhammer // Dialogues Clin Neurosci. - 2006. - Vol.8(2). - P.227–239.

98. Karim, F. Social Media Use and Its Connection to Mental Health: A Systematic Review / F. Karim, Azeezat A Oyewande, Lamis F Abdalla, Reem Chaudhry Ehsanullah, Safeera Khan // Cureus. – 2020. – Vol.12(6). – e.8627

99. Karpenko, O.A. Impact of COVID-19 pandemic on anxiety, depression and distress – online survey results amid the pandemic in Russia / O.A. Karpenko, T.S. Syunyakov, M.A. Kulygina [et al.] // Consortium Psychiatricum. - 2020. - Vol.1(1). - P.8–20.

100. Kendler, K.S. Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression / K.S. Kendler, L.M. Karkowski, C.A. Prescott // Am J Psychiatry. - 1999. - Vol.156(6). - P.837–841.

101. Khalid, M.M. Tricyclic Antidepressant Toxicity / M.M. Khalid, M. Waseem. // StatPearls. Treasure Island. – 2021 – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430931/ (дата обращения 05.03.2021).

102. Kikuchi T. Is Memantine Effective as an NMDA Receptor Antagonist in Adjunctive Therapy for Schizophrenia? / T. Kikuchi // Biomolecules. - 2020. - Vol.10(8) – e.1134

103. Klimochkin, Yu.N. Antiviral properties of cage compounds. New prospects / Yu. N. Klimochkin, V.A. Shiryaev, M.V. Leonova // Russ Chem Bull. - 2015. - Vol.64(7). - P.1473–1496.

104. Koola, M.M. Galantamine-Memantine combination in the treatment of Alzheimer's disease and beyond / M.M. Koola // Psychiatry Res.- 2020. - Vol.293. - e.113409.

105. Korpi, E.R. GABA(A) receptor subtypes as targets for neuropsychiatric drug development / E.R. Korpi, S.T. Sinkkonen // Pharmacol. Ther. 2006. - Vol. – 109(1–2). - P.12–32.

106. Krapivin, S. V. Comparative analysis of the effects of adapromine, midantane, and bromantane on bioelectrical activity of rat brain / S.V. Krapivin, S. A. Sergeeva, I.S. Morozov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1998. – Vol.125. – P.- 151-155.

107. Krzystanek, M. Possibility of a New Indication for Amantadine in the Treatment of Bipolar Depression—Case Series Study / A. Pałasz. // Pharmaceuticals (Basel). - 2020. - Vol.13(10). – P.326.

108. Kudrin, V.S. The effect of bromantane on the dopamin- and serotoninergic systems of the rat brain / V.S. Kudrin, L.M. Krasnykh, I.I. Miroshnichenko, T.V. Grekhova // Eksp Klin Farmakol. - 1995. - Vol.58(4). P.8–11.

109. Kuns, B. Memantine / A. Rosani, D. Varghese // StatPearls Publishing – 2021. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763201/

110. Kupats, E. Mitochondrial-Protective Effects of R-Phenibut after Experimental Traumatic Brain Injury / E. Kupats, Gundega Stelfa, Baiba Zvejniece, Solveiga Grinberga [et al] // Oxid Med Cell Longev. – 2020. – Vol.2020. – P12.

111. Kupats, E. Safety and Tolerability of the Anxiolytic and Nootropic Drug Phenibut: A Systematic Review of Clinical Trials and Case Reports / E. Kupats, Einars Kupats, Jelena Vrublevska, Baiba Zvejniece [et al] // Pharmacopsychiatry. – 2020. – Vol.53(5). – P.201-208

112. Kupats, E. Safety and Tolerability of the Anxiolytic and Nootropic Drug Phenibut: A Systematic Review of Clinical Trials and Case Reports / E. Kupats, Jelena Vrublevska, Baiba Zvejniece, Edijs Vavers [et al] // Pharmacopsychiatry. - 2020. - Vol.53(5). - P.201–208.

113. Kuriakose, D. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives / D. Kuriakose, Z. Xiao // Int J Mol Sci. - 2020. - Vol.21(20) – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33076218/

114. Lamoureux, G. Use of the adamantane structure in medicinal chemistry / G. Artavia / G. Lamoureux, G. Artavia // Curr. Med. Chem. - 2010. - Vol.17(26). - P.2967–2978.

115. Lance, H. L-arginine effects on cerebrovascular reactivity, perfusion and neurovascular coupling in MELAS (mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes) syndrome / H. Lance, Julien Poublanc, Joseph A Fisher [et al] // PLoS One – 2020. - e0238224. [Electronic resource]. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7470264/ (accessed: 19.05.2021).

116. Lapin, I. Phenibut (beta-phenyl-GABA): a tranquilizer and nootropic drug / I. Lapin // CNS Drug Rev. - 2001. - Vol. 7(4). - P.471–481.

117. Lebedev, A.A. Effect of astressin, a corticoliberin antagonist, on aggression and anxiety-fobic states in male rats reared in social isolation / A.A. Lebedev, A.G. Pshenichnaya, E.R. Bychkov [et al] // Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. - 2017. - Vol.15(3). - P.38–47.

118. Leeman-Markowski, B.A. Does memantine improve memory in subjects with focal-onset epilepsy and memory dysfunction? A randomized, double-blind, placebo-controlled trial / B.A. Leeman-Markowski, Kimford J Meador, Lauren R, Moo J Andrew [et al] // Epilepsy Behav. – 2018. – Vol.88. – P.315-324.

119. Leger, M. Object recognition test in mice / M. Leger, Anne Quiedeville, Valentine Bouet, Benoît Haelewyn [et al] // Nature Protocols. Nature Publishing Group. - 2013. – Vol.8(12). - P.2531–2537.

120. Lidster, K. Cage aggression in group-housed laboratory male mice: an international data crowdsourcing project / K. Lidser, Katie Lidster, Kathryn Owen [et al] // Scientific Reports. Nature Publishing Group. - 2019. - Vol.9(1). - P.1–12.

121. Liebig, S. Richard Wilkinson and Kate Pickett (2009): The Spirit Level. Why More Equal Societies Almost Always Do Better. Allen Lane, London / S. Liebig // Soc Just Res. - 2012. - Vol.25(1). - P.102–107.

122. Liu, Q. Changes in the global burden of depression from 1990 to 2017: Findings from the Global Burden of Disease study / Q. Liu, Hairong He, Jin Yang, Xiaojie Feng [et al] // J Psychiatr Res. - 2020. - Vol.126. - P.134–140

123. Liu, X. Longitudinal in vivo Diffusion Tensor Imaging Detects Differential Microstructural Alterations in the Hippocampus of Chronic Social Defeat Stress-Susceptible and Resilient Mice / X. Liu, Yu Guang, Xiaoxia Wang [et al] // Front Neurosci. - 2018. - Vol.12. - P.613.

124. Loggini A. The role of amantadine in cognitive recovery early after traumatic brain injury: A systematic review / A. Loggini, Ruth Tangonan, Faten El Ammar, Ali Mansour [et al] // Clin Neurol Neurosurg. 2020. Vol. 194. e.105815.

125. Lorrai, I. R(+)-Baclofen, but Not S(−)-Baclofen, Alters Alcohol Self-Administration in Alcohol-Preferring Rats / I.R. Lorrai, Paola Maccioni, Gian Luigi Gessa, Giancarlo Colombo // Front Psychiatry. - 2016. - Vol.7 – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27148096/

126. Lupp, A. Inhibitory effects of the antiparkinsonian drugs memantine and amantadine on N-methyl-D-aspartate-evoked acetylcholine release in the rabbit caudate nucleus in vitro / A. Lupp, R. Koch, R. Jackisch, T.J. Feuerstein // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1992. - Vol.263(2). - P.717–724

127. Ma, L. Depression, Anxiety, and Apathy in Mild Cognitive Impairment: Current Perspectives / L. Ma // Front Aging Neurosci. - 2020. – Vol.(12). - P.9.

128. Malykh, A.G. Piracetam and piracetam-like drugs: from basic science to novel clinical applications to CNS disorders / A.G. Malykh, M. Reza Sadaie // Drugs. - 2010. - Vol.70(3). - P.287–312

129. Manikandan, S. Agomelatine: A novel melatonergic antidepressant / S. Manikandan // J Pharmacol Pharmacother. - 2010. - Vol.1(2). - P.122–123

130. McCollum, L. Cognitive Impairment Evaluation and Management / L. McCollum, Jason Karlawish // Med Clin North Am. - 2020. - Vol.104(5). - P.807–825.

131. Medeiros, G.C. Post-stroke depression: A 2020 updated review / G.C. Medeiros, Durga Roy, Nicholas Kontos, Scott R Beach // Gen Hosp Psychiatry. - 2020. - Vol.66. - P.70–80.

132. Michael P. Hengartner. How effective are antidepressants for depression over the long term? A critical review of relapse prevention trials and the issue of withdrawal confounding / M. P. Hengartner // Ther Adv Psychopharmacol. – 2020. – Vol. 10. – P.1-10

133. Mikami, K. Effect of Antidepressants on the Course of Disability Following Stroke / K. Mikami, Ricardo E Jorge, Harold P Adams Jr, Patricia H Davis [et al] // Am J Geriatr Psychiatry. - 2011. Vol. 19, № 12. P. 1007–1015.

134. Miliukhina, I.V. The use of Akatinol Memantine in the treatment of gait disturbances in Parkinson’s disease / I.V. Miliukhina, E.V. Gracheva // Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. – 2020/ - Vol.120(8). – P.27-33.

135. Minkeviciene, R. Cognition-enhancing and anxiolytic effects of memantine. / R. Minkeviciene, P. Banerjee, H. Tanila // Neuropharmacology. – 2008. – Vol.54(7). – P.1079-1085.

136. Moraczewski, J. Tricyclic Antidepressants / J. Moraczewski, K.K. Aedma // StatPearls Publishing. – 2021. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557791/

137. Napoletano, F. The Psychonauts’ World of Cognitive Enhancers / F. Napoletano, Fabrizio Schifano, John Martin Corkery, Amira Guirguis [et al] // Front Psychiatry. – 2020. – Vol.11. – e.546796.

138. Narushima, K. The effect of early versus late antidepressant treatment on physical impairment associated with poststroke depression: is there a time-related therapeutic window? / K. Narushima, R.G. Robinson // J Nerv Ment Dis. – 2003. – Vol.191(10). – P. 645-652.

139. Neznamov, G.G. Ladasten, the new drug with psychostimulant and anxiolytic actions in treatment of neurasthenia (results of the comparative clinical study with placebo) / G.G. Neznamov, S A Siuniakov, S.E. Teleshova, D.V. Chumakov [et al] // Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova. - 2009. - Vol.109(5). - P.20–26.

140. Nguyen, L.A. Chiral Drugs: An Overview / C. Pham-Huy // Int J Biomed Sci. - 2006. - Vol.2(2). - P.85–100

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

142. Oliynyk, S. The pharmacology of actoprotectors: practical application for improvement of mental and physical performance / S. Oliynyk, Seikwan Oh // Biomol Ther (Seoul). - 2012. - Vol.20(5). - P.446–456.

143. Pacher, P. Trends in the Development of New Antidepressants. Is there a Light at the End of the Tunnel? / P. Pacher, V. Kecskemeti // Curr Med Chem. – 2004. – Vol.11(7). – P.925-943.

144. Padala, P.R. Selective serotonin reuptake inhibitors-associated apathy syndrome / Prasad R Padala, Kalpana P Padala, Anusha S Majagi [et al] // Medicine (Baltimore).- 2020. - Vol.99(33) – e21497.

145. Panagiota, K. The Relationship Between Burnout, Depression, and Anxiety: A Systematic Review and Meta-Analysis / K. Panagiota, Anthony Montgomery, Katerina Georganta // Front Psychol. – 2019. – Vol.10. – P. 284

146. Panossian A. Understanding adaptogenic activity: specificity of the pharmacological action of adaptogens and other phytochemicals / A. Panossian // Ann N Y Acad Sci. - 2017. - Vol.1401(1). - P.49–64.

147. Pardridge, W.M. Treatment of Alzheimer’s Disease and Blood-Brain Barrier Drug Delivery / W.M. Pardridge // Pharmaceuticals (Basel). -2020. -Vol.13(11) – e.394.

148. Parkhomenko, R.I. The role of GABAA and GABAB receptors in the development of amnesia / R.I. Parkhomenko, R.Y Il'yuchenok // Neurosci Behav Physiol. – 1990. – Vol.20(4). – P.317-322.

149. Paulin Jirkof. The effect of group size, age and handling frequency on inter-male aggression in CD 1 mice / Paulin Jirkof, Natalie Bratcher, Letty Medina, Donna Strasburg [et al] // Scientific Reports – 2020. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7010790/ (accessed: 19.05.2021).

150. Pineda-Ramírez, N. Antioxidant Properties and Protective Effects of Some Species of the Annonaceae, Lamiaceae, and Geraniaceae Families against Neuronal Damage Induced by Excitotoxicity and Cerebral Ischemia / N. Pineda-Ramírez, Fernando Calzada, Iván Alquisiras-Burgos, Omar Noel Medina-Campos [et al] // Antioxidants (Basel). - 2020. - Vol.9(3). - PMID: 32244955

151. 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. – T. 47. – №. 4. – C. 379-391.

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

153. Prince, M.J. A prospective population-based cohort study of the effects of disablement and social milieu on the onset and maintenance of late-life depression. The Gospel Oak Project VII / M.J. Prince, R H Harwood, A Thomas, A H Mann // Psychol Med. - 1998. - Vol.28(2). - P.337–350.

154. Protti, M. New-generation, non-SSRI antidepressants: Drug-drug interactions and therapeutic drug monitoring. Part 2: NaSSAs, NRIs, SNDRIs, MASSAs, NDRIs, and others / M. Protti, Roberto Mandrioli, Camilla Marasca, Andrea Cavalli [et al] // Med Res Rev. - 2020. - Vol.40(5). - P.1794–1832.

155. Pubchem: National Library of Medicine (US). Adamantane. – 2021. - URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Adamantane. (accessed: 14.07.2020)

156. Pubchem: National Library of Medicine (US). Adapalene. – 2021. - URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60164 (accessed: 25.03.2021).

157. Pubchem: National Library of Medicine (US). Rimantadine. – 2021. - URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/rimantadine (accessed: 25.03.2021)

158. Ramic, E. Assessment of the Antidepressant Side Effects Occurrence in Patients Treated in Primary Care / E. Ramic, Enisa Ramic, Subhija Prasko, Larisa Gavran, Emina Spahic // Mater Sociomed. – 2020 – Vol.32(2). – P.131-134.

159. Ramirez, K. Antidepressant imipramine diminishes stress-induced inflammation in the periphery and central nervous system and related anxiety- and depressive- like behaviors / K. Ramirez, J.F. Sheridan // Brain Behav Immun. - 2016. - Vol.57. - P.293–303.

160. Raupp-Barcaro, I.F. Potential antidepressant effect of amantadine: a review of preclinical studies and clinical trials / I.F. Raupp-Barcaro, Maria A Vital, José C Galduróz, Roberto Andreatini // Braz J Psychiatry. - 2018. - Vol.40(4). - P.449–458

161. Raymond L.A. Striatal synaptic dysfunction and altered calcium regulation in Huntington disease / L.A. Raymond // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2017. - Vol.483(4). - P.1051–1062.

162. Reddy, M.S. Depression: The Disorder and the Burden / M.S. Reddy // Indian J Psychol Med. 2010. - Vol.32(1). - P.1–2.

163. Richelson, E. Tricyclic antidepressants and histamine H1 receptors / E. Richelson // Mayo Clin Proc. - 1979. - Vol.54(10). - P.669–674.

164. Robinson, R.G. Poststroke depression: a review / G Spalletta. / R.G. Robinson, Gianfranco Spalletta // Can J Psychiatry. - 2010. - Vol. 55, № 6. - P. 341–349.

165. Rodermund, P. Blockage of NMDA- and GABA(A) Receptors Improves Working Memory Selectivity of Primate Prefrontal Neurons / P. 164. Rodermund, Stephanie Westendorff, Andreas Nieder // Circuits – 2020 – Vol.40(7). P. 1527-1537

166. Rogers, J.P. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic / J.P. Rogers, Edward Chesney, Dominic Oliver, Thomas A Pollak [et al] // Lancet Psychiatry. - 2020. - Vol.7(7). P.611–627.

167. Rosen, R.C. Effects of SSRIs on sexual function: a critical review / R.C. Rosen, R.M.Lane, M. Menza // J Clin Psychopharmacol. - 1999. - Vol.19(1). - P.67–85.

168. Ryan R.M. Self-determination theory and the facilitation of intrinsic motivation, social development, and well-being / R.M. Ryan, E.L. Deci // Am Psychol. - 2000. - Vol.55(1). - P.68–78.

169. S. Westendorff, A. Nieder // J Neurosci. – 2020. – Vol.40(7). – P.1527-1537.

170. Salvatore Santo Signorelli. Insights from Experiences on Antiplatelet Drugs in Stroke Prevention: A Review / Salvatore Santo Signorelli, Ingrid Platania, Salvatore Davide Tomasello, Marco Mangiafico [et al] // Int J Environ Res Public Health – 2020. – Vol.17(16). e.5840

171. Sankhi, S. Adverse Drug Reaction due to Antidepressants among Patients with Depression in a Private Psychiatric Hospital of Nepal / S. Sankhi, Nirmal Raj Marasine, Saroj Sankhi, Rajendra Lamichhane [et al] // Biomed Res Int. – 2020. – Vol.2020. – e.16;2020:6682928.

172. Sarris, J. Lifestyle medicine for depression / Adrienne O'Neil, Carolyn E Coulson, Isaac Schweitzer / J. Sarris, Adrienne O'Neil, Carolyn E Coulson, Isaac Schweitzer, Michael Berk // BMC Psychiatry. - 2014. Vol.14. - P.107.

173. Schneider, P. Privileged Structures Revisited / P. 172. Schneider, G. Schneider // Angew Chem Int Ed Engl. – 2017. – Vol.56(27). – P. 7971-7974.

174. Sørgaard, K.W. Treatment needs, diagnoses and use of services for acutely admitted psychiatric patients in northwest Russia and northern Norway / K.W. Sørgaard, Grigory Rezvy, Anatoly Bugdanov, Tore Sørlie, Trond Bratlid // Int J Ment Health Syst. - 2013. - Vol.7. - P.4.

175. Spasov, A.A. Adamantane derivatives: Pharmacological and toxicological properties (review) / A.A. Spasov, T.V. Khamidova, L.I. Bugaeva, I.S. Morozov // Pharm Chem J. - 2000. - Vol.34(1). - P.1–7.

176. Spellicy, S.E. Semi-Automated Cell and Tissue Analyses Reveal Regionally Specific Morphological Alterations of Immune and Neural Cells in a Porcine Middle Cerebral Artery Occlusion Model of Stroke / S.E. Spellicy, Kelly M. Scheulin, Brian J. Jurgielewicz [et al] // Front Cell Neurosci. - 2021. - Vol.14. – e. 14:600441

177. Spilovska, K. Adamantane - A Lead Structure for Drugs in Clinical Practice / K. Spilovska, Jan Korabecny, Eugenie Nepovimova [et al] // Curr. Med. Chem. - 2016. - Vol.23(29). - P.3245–3266

178. Spoorthy, M.S. Mental health problems faced by healthcare workers due to the COVID-19 pandemic–A review / M.S. Spoorthy, S.K. Pratapa, S. Mahant // Asian J Psychiatr. - 2020. - Vol.51. – e.102119

179. Stahl, S.M. SNRIs: their pharmacology, clinical efficacy, and tolerability in comparison with other classes of antidepressants / S.M. Stahl, Meghan M Grady, Chantal Moret, Mike Briley // CNS Spectr. - 2005. - Vol.10(9). - P.732–747

180. Steckler, T. Pharmacological Treatment of PTSD – Established and New Approaches / T. Steckler, V. Risbrough // Neuropharmacology. - 2012. - Vol.62(2). - P.617–627

181. Steru, L. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice / L. Steru, R. Chermat, B. Thierry, P. Simon // Psychopharmacology (Berl). - 1985. - Vol.85(3). - P.367–370.

182. Štimac, A. Adamantane in Drug Delivery Systems and Surface Recognition / A. Štimac, Marina Šekutor, Kata Mlinarić-Majerski, Leo Frkanec [et al] // Molecules. - 2017. - Vol.22(2) e.297

183. Suliman, N.A. Establishing Natural Nootropics: Recent Molecular Enhancement Influenced by Natural Nootropic / N.A. Suliman, Che Norma Mat Taib, Mohamad Aris Mohd Moklas, Mohd Ilham Adenan [et al] // Evid Based Complement Alternat Med. - 2016. – e.4391375.

184. Tallerova, A.V. Correcting effect of ladasten on variations in the subpopulation composition of T lymphocytes in C57BL/6 mice on the experimental model of an anxious-depressive state / A.V. Tallerova, L.P. Kovalenko, O.S. Kuznetsova, A. D. Durnev, S.B. Seredenin // Bull. Exp. Biol. Med. - 2014. - Vol.156(3). - P.335–337.

185. Tawfik, M.A. Low-Frequency versus High-Frequency Ultrasound-Mediated Transdermal Delivery of Agomelatine-Loaded Invasomes: Development, Optimization and in-vivo Pharmacokinetic Assessment / M.I. Tadros, M.I. Mohamed, E. Nageeb // Int J Nanomedicine. - 2020. - Vol.15. - P.8893–8910.

186. Theil, J.H. The epidemiology of fighting in group-housed laboratory mice /J.H. Theil, J amie Ahloy-Dallaire, N. Brianna, R. Kathleen [et al] // Sci Rep. - 2020. - Vol.10(1). - e.16649

187. Thomas McCarter. Depression: Overview. // Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). – 2020. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279285/

188. Tong Y. Seizures caused by pyridoxine (vitamin B6) deficiency in adults: A case report and literature review / Y. Tong // Intractable Rare Dis Res. - 2014. - Vol.3(2). P.52–56.

189. Toyoda A. Social defeat models in animal science: What we have learned from rodent models / A. Toyoda // Anim Sci J. - 2017. – Vol.88(7). - P.944–952.

190. Tsuzuki N. Adamantane as a brain-directed drug carrier for poorly absorbed drug. 2. AZT derivatives conjugated with the 1-adamantane moiety / N. Tsuzuki, T Hama, M Kawada, A Hasui, R Konishi, S Shiwa [et al] // J Pharm Sci. 1994. Vol. 83, № 4. P. 481–484.

191. Twenge, J.M. Birth cohort increases in psychopathology among young Americans, 1938–2007: A cross-temporal meta-analysis of the MMPI / J.M. Twenge, Brittany Gentile, C Nathan DeWall, Debbie Ma [et al] // Clinical Psychology Review. - 2010. - Vol.30(2). - P.145–154.

192. Tyurenkov, I.N. Comparison of Nootropic and Neuroprotective Features of Aryl-Substituted Analogs of Gamma-Aminobutyric Acid / I.N. Tyurenkov, L.E. Borodkina, V.V. Bagmetova, V.M. Berestovitskaya [et al] // Bull. Exp. Biol. Med. - 2016. - Vol.160(4). - P.465–469

193. Vaz, R.L. Identification of antiparkinsonian drugs in the 6-hydroxydopamine zebrafish model / R.L. Vaz, Sara Sousa, Diana Chapela, Herma C van der Linde [et al] // Pharmacol Biochem Behav. - 2020. - Vol.189. - e.172828.

194. Vernier, V.G. The toxicologic and pharmacologic properties of amantadine hydrochloride / V.G. Vernier, B.J. Harmon, M. John [et al] // Toxicology and Applied Pharmacology. - 1969. - Vol.15(3). - P.642–665.

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

196. Volotova, E.V. Neuroprotective action of phenibut and neuroglutam in experimental cerebral ischemia on the background of altered immunoreactivity / I S Filina, D.A. Bakulin, D.V. Kurkin [et al] // Eksp Klin Farmakol. – 2016. Vol.79(4). – P.18-25.

197. Voss, R.M. Mental Status Examination / R.M. Voss, M Das J // StatPearls. Treasure Island. – 2021.- URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31536288/

198. Wan Y. GABAergic system in the endocrine pancreas: a new target for diabetes treatment / Y. Wan, Q, Wang, G.J. Prud'homme // Diabetes Metab Syndr Obes. - 2015. - Vol.8. - P.79–87.

199. Wang Q. GABAergic regulation of pancreatic islet cells: Physiology and antidiabetic effects / Q. Wang, Liwei Ren, Yun Wan, Gerald J Prud'homme // J. Cell. Physiol. - 2019. Vol.234(5). – e.28214

200. Wang, J. Prevalence of depression and depressive symptoms among outpatients: a systematic review and meta-analysis / J. Wang, Jinghui Wang, Xiaohang Wu, Weiyi Lai [et al] // BMJ Open. – 2017. - Vol.7(8). – e.017173.

201. Wang, S.M. Addressing the Side Effects of Contemporary Antidepressant Drugs: A Comprehensive Review. / S.M. Wang, Sheng-Min Wang, Changsu Han, Won-Myoung Bahk [et al.] // Chonnam Med J. – 2018. – Vol.54(2). – P.101-112.

202. Wang, S.M. Agomelatine for the Treatment of Generalized Anxiety Disorder: A Meta-Analysis / S.M. Wang, Young Sup Woo, Nak-Young Kim, Hae-Ran Na [et al] // Clin Psychopharmacol Neurosci. - 2020. - Vol.18(3). - P.423–433

203. Wang, Z. Diversiform Etiologies for Post-stroke Depression / Z. Wang, Yanmin Shi, Fangfang Liu, Nan Jia [et al] // Front Psychiatry – 2019. – Vol.9. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30728786/

204. Wanka, L. The lipophilic bullet hits the targets: medicinal chemistry of adamantane derivatives / L. Wanka, K. Iqbal, P.R. Schreiner // Chem. Rev. 2013. - Vol.113(5). - P.3516–3604

205. WHO – 2020 - Depression: URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression (accessed: 14.07.2020).

206. Willner, P. Dopaminergic mechanism of antidepressant action in depressed patients / P. Willner, A.S. Hale, S. Argyropoulos // J Affect Disord. - 2005. - Vol.86(1). - P.37–45

207. Winblad B. Piracetam: a review of pharmacological properties and clinical uses / B. Winblad // CNS Drug Rev. - 2005. – Vol.11(2). - P.169–182.

208. Winkler, P. Increase in prevalence of current mental disorders in the context of COVID-19: analysis of repeated nationwide cross-sectional surveys / P. Winkler, T. Formanek, K. Mlada, A. Kagstrom [et al] // Epidemiol Psychiatr Sci. - 2020. - Vol.29. – e.173

209. Wiwanitkit, V. Amantadine, COVID-19 and Parkinsonism / V. Wiwanitkit // Arch Med Res. - 2020. - Vol.51(7) - P.714.

210. Wu, Q. Tricyclic Antidepressant Use and Risk of Fractures: A Meta-Analysis of Cohort Studies through the Use of both Frequentist and Bayesian Approaches / Q. Wu, Qing Wu, Yingke Xu, Yueyang Bao [et al.] // J Clin Med. – 2020. – Vol.9(8). – e. 2584

211. Xu, X. Efficacy and feasibility of antidepressant treatment in patients with post-stroke depression / X. Xu, De-Zhi Zou, Liu-Yan Shen, Yang Liu [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2016. – Vol 95(45). - .e.5349

212. Yong Geng. Structural mechanism of ligand activation in human GABAB receptor / Yong Geng, Martin Bush, Lidia Mosyak, Feng Wang [et al] // Nature. – 2013.- P.254-259.

213. Young, M.J. Disabling stroke in persons already with a disability / Robert W Regenhardt, Thabele M Leslie-Mazwi, Michael Ashley Stein / M.J. Young, Robert W Regenhardt, Thabele M Leslie-Mazwi, Michael Ashley Stein // Neurology. - 2020. - Vol.94(7). - P.306–310

214. Zheng K.H. Phenibut Addiction in a Patient with Substance Use Disorder / K.H. Zheng, A Khan, E.D. Espiridion // Cureus. – 2019.- Vol.11(7). – e.5230.

215. Zoidis, G. The novel GABA adamantane derivative (AdGABA): design, synthesis, and activity relationship with gabapentin / G. Zoidis, Ioannis P. Papanastasiou, Ioannis

Dotsikas, Alejandro Sandoval [et al] // Bioorg. Med. Chem. - 2005. - Vol.13(8). - P.2791–2798.

216. Zvejniece, L. Investigation into stereoselective pharmacological activity of phenotropil / L. Zvejniece, Liga Zvejniece, Baiba Svalbe, Grigory Veinberg [et al] // Basic Clin Pharmacol Toxicol. – 2011. – Vol.109(5). – P.407-412.