

На правах рукописи

Никитина Анастасия Вадимовна

**СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ФОСФОРИЛЬНОГО ФРАГМЕНТА С
ЧЕТЫРЕХКООРДИНИРОВАННЫМ АТОМОМ ФОСФОРА –
ОПТИМАЛЬНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ СОЗДАНИЯ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С РАЗЛИЧНЫМ СПЕКТРОМ
ПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Казань – 2024

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Семина Ирина Ивановна

Официальные оппоненты:

Воронина Татьяна Александровна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела нейропсихофармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Никитина Ирина Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт–Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2024 года в ___ часов на заседании диссертационного совета 21.2.012.01 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д.49).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49) и на сайте (<https://kazangmu.ru>) ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор

Хасанова Г. Р.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Учитывая значительный рост стрессогенных факторов в современном обществе, высокий процент инвалидизации пациентов неврологического профиля, а также рост числа нейродегенеративных заболеваний, обусловленный старением населения, можно с уверенностью прогнозировать дальнейшее увеличение числа людей, страдающих расстройствами центральной нервной системы, включая неврозы с симптомами депрессии, тревожности, нарушения когнитивных функций и др. (Shafi A., 2020; Song H., 2020).

Кроме того, в последние годы существенно возросла распространенность расстройств аутистического спектра (РАС), которые сопровождаются повышенной тревожностью, депрессией, агрессией и дефицитом социального поведения (Божкова Е. Д., 2020).

Поскольку механизмы развития данных расстройств часто взаимосвязаны и включают совокупность симптомов, целесообразен поиск лекарственных средств, способных оказывать комплексное воздействие на центральную нервную систему (Chen C., 2022). В связи с этим актуальной задачей является разработка потенциальных лекарственных препаратов с нейропсихотропной активностью, способных одновременно оказывать влияние на разные звенья патогенеза психических расстройств (Chen C., 2022; Tanaka M., 2023). Такими свойствами обладают производные фосфорилированных карбоновых кислот с четырехкоординированным атомом фосфора, который способен удерживать несколько функционально-активных групп (Семина И.И., 2002; Шиловская Е.В., 2013; Макарова Е.А., 2015).

Степень разработанности темы исследования. Ранее проведенные на кафедре фармакологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России исследования показали, что соединения – производные фосфорилированных карбоновых кислот, содержащие четырехкоординированный атом фосфора, обладают анксиолитической, антидепрессивной, нейропротекторной активностью (Ржевская Г.Ф., 1962; Заиконникова И.В., 1980; Семина И.И., 2000;

Тарасова Р.И., 2007; Шиловская Е.В., 2013) и имеют мультитаргетный механизм действия (Семина И.И., 2002, 2015; Макарова, 2015). Однако, исследование новых фосфорсодержащих соединений, а именно N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот, фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот, а также фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов не проводилось.

Цель

Оценка нейрпсихотропных эффектов в новых рядах соединений на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора как потенциальных лекарственных средств с различным спектром психотропной активности.

Задачи

1. Осуществить компьютерный прогноз возможных фармакологических эффектов 48 новых соединений из трех рядов: N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот, фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот и производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,4-триазол-3-тионов, и провести анализ полученных результатов для выявления веществ с вероятными эффектами на центральную нервную систему.

2. На основании данных компьютерного прогноза экспериментально исследовать оптимальные соединения, показавшие вероятность наличия анксиолитических, мнотропных, антидепрессивных и противовоспалительных эффектов на лабораторных животных.

3. Оценить эффекты наиболее активных соединений из каждого ряда на поведение крыс в вальпроатной модели аутизма (ВМА).

4. Провести анализ зависимости активности исследуемых соединений от их химической структуры.

Научная новизна. Впервые осуществлен компьютерный прогноз и исследовано влияние на центральную нервную систему трех рядов новых фосфорсодержащих соединений: N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-

оксоэтил)арилфосфиновых кислот, фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот, а также фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов. В условиях эксперимента установлено, что данные вещества способны оказывать анксиолитическое, антидепрессивное действие, положительно влиять на обучение и память, а также проявлять противовоспалительную активность.

Впервые выявлена способность соединений – представителей изученных рядов N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот (B2), фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот (C5), производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,4-триазол-3-тионов (T8) положительно влиять на нарушенное поведение крыс в ВМА.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные о психотропной и противовоспалительной активности новых соединений на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора существенно дополняют характеристику этого перспективного для фармакологии и клиники химического класса веществ, что позволяет рекомендовать рациональные пути синтеза новых, более активных соединений, которые могли бы стать объектами доклинического изучения. На основании полученных результатов были выделены наиболее активные соединения из каждого ряда: 2-этокси-2-оксоэтанаммониевая соль (2-этокси-2-оксоэтил)(4-хлорфенил)фосфиновой кислоты (B3), дифенилфосфинилметангидразид (C5) и 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (T8), которые перспективны для дальнейших исследований и разработки в качестве средств с мнемотропной, анксиолитической и антидепрессивной активностью. Соединения 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (T8), 2-этокси-2-оксоэтанаммониевая соль (2-этокси-2-оксоэтил)фенилфосфиновой кислоты (B2) и дифенилфосфинилметангидразид (C5) положительно влияют на нарушенное поведение крыс в ВМА и перспективны для дальнейшего изучения в качестве средств для коррекции нарушений при расстройствах аутистического

спектра. Получен патент на изобретение на оптимальное соединение – дифенилфосфинилметангидразид (С5), обладающий низкой токсичностью, анксиолитической и противовоспалительной активностью, а также способностью корректировать нарушенное поведение крыс в ВМА.

Методология и методы исследования. В диссертации применен метод компьютерного прогнозирования спектра биологической активности программой Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS), поведенческие методы исследования и метод оценки противовоспалительной активности. Дизайн согласуется с принципами проведения экспериментов на лабораторных животных и основывается на принципах биоэтики. Исследования с использованием животных осуществлялись в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Положения, выносимые на защиту:

1. Новые соединения – представители рядов N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот, фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот, производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,4-триазол-3-тионов обладают анксиолитической, антидепрессивной и противовоспалительной активностью, а также способны улучшать когнитивные функции.

2. Соединения 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (Т8), 2-этокси-2-оксоэтанаммониевая соль (2-этокси-2-оксотил)фенилфосфиновой кислоты (В2) и дифенилфосфинилметангидразид (С5) корректируют поведенческие нарушения у крыс в ВМА.

3. Соединения 2-этокси-2-оксоэтанаммониевая соль (2-этокси-2-оксотил) (4-хлорфенил)фосфиновой кислоты (В3), дифенилфосфинилметангидразид (С5) и 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (Т8) являются перспективными для последующих исследований и разработки в

качестве потенциальных лекарственных средств с анксиолитической, мнемотропной и антидепрессивной активностью.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность предоставленных в работе результатов исследования подтверждается использованием современных стандартных экспериментальных методов, величиной и однородностью выборок объектов исследования, применением адекватных методов с последующей систематизацией и статистической обработкой. При подготовке обзора литературы использована современная и актуальная литература по теме диссертационного исследования.

Основные положения диссертации представлены на Общероссийском научно-практическом форуме «Эстафета вузовской науки» (г. Москва, 2017 г.); III-ей Российской конференции по медицинской химии (г. Казань, 2017 г.); XIX Международной научно-практической конференции имени профессора Л. П. Кулева студентов и молодых ученых (г. Томск, 2018 г.); V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарственных средств» (г. Ярославль, 2018 г.); Международной конференции «Актуальные проблемы нейробиологии», посвященной памяти академика РАН Никольского Е. Е. (г. Казань, 2019 г.); V Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (г. Судак, 2019 г.); Всероссийских научных медицинских форумах студентов и молодых учёных с международным участием «Белые цветы» IV, V, VII, VIII, X (Казань, 2017, 2018, 2020, 2021, 2023 гг.).

По теме диссертации опубликованы 24 печатные работы, включая 4 статьи в журналах, входящих в международные базы данных Scopus и/или WoS, 3 статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и 1 патент на изобретение.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования внедрены в работу кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Личный вклад автора. Личный вклад автора заключался в планировании исследования, постановке цели и задач, разработке дизайна исследования, проведении экспериментальной части, анализе литературы, формулировании выводов. Статистическая обработка результатов проводилась лично автором на всех этапах диссертационного исследования. Автором оформлены к печати публикации по результатам исследований.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 116 страницах, включает 24 рисунка, 7 таблиц и имеет следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение, выводы, список литературы (79 отечественных и 56 зарубежных источников) и 18 приложений.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Для оптимизации отбора новых потенциальных лекарственных средств с психотропной активностью был проведен прогноз фармакологической активности 48 соединений с использованием компьютерной программы PASS. По результатам прогноза были отобраны 29 соединений, психотропная и противовоспалительная активность которых была исследована в экспериментах, затем 3 наиболее активных вещества (по одному из каждого ряда) были изучены на предмет возможности коррекции поведенческих изменений у крыс в ВМА.

Экспериментальные животные. Исследования проведены на 378 крысах обоего пола линии Wistar (200–300 г), 2836 мышах–самцах (20–25 г). Все исследования были одобрены Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (протокол №10 от 19.12.2017).

Объекты исследования. Объектами исследования явились 3 ряда фосфорсодержащих соединений: N-замещённые аммонийные соли (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот (таблица 1), фосфорилированные производные уксусной и муравьиной кислот (таблица 2), фосфорилированные производные тиосемикарбазидов и их циклических аналогов (таблица 3). Для сравнения были использованы лекарственные препараты: транквилизатор феназепам, 1 мг/кг (ОАО «Новосибхимфарм», Россия); антидепрессант

имипрамин, 7 мг/кг (мелипрамин «Эгис», Венгрия); ноотропное средство пирацетам, 100 мг/кг (ОАО «Органика», Россия); нейропротектор мемантин, 10 мг/кг (меманейрин ЗАО «БИС», Россия); нестероидное противовоспалительное средство диклофенак натрия, 8 мг/кг (ООО «Немофарм», Россия); антидепрессант амитриптилин, 4 мг/кг (Московский эндокринный завод, Россия); нейролептик рисперидон, 1 мг/кг (Янссен Фармацевтика НВ, Бельгия), а также структурные аналоги – дифенилфосфинилэтангидразид (фосеназид) и 2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенилфосфорилацетогидразид (КАПАХ).

Таблица 1 – Химические структуры новых N – замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот

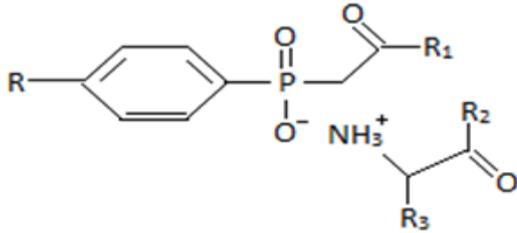
					
№	Шифр	R	R ₁	R ₂	R ₃
1	B1	H	NH-NH ₂	NH-NH ₂	CH ₃
2	B2	H	O-Et	O-Et	H
3	B3	Cl	O-Et	O-Et	H
4	B4	Cl	NH-NH ₂	NH-NH ₂	CH ₃
5	B14	F	O-Et	O-Et	H
6	B15	H	O-Et	CH ₃	O-CH ₃
7	B16	Cl	O-Et	O-CH ₃	CH ₃
8	B17	F	O-Et	O-CH ₃	CH ₃
9	B27	Cl	O-Et	O-CH ₃	Ph-CH ₂
10	B28	F	O-Et	O-CH ₃	Ph-CH ₂
11	B29	H	O-Et	O-CH ₃	Ph-CH ₂
12	B33	H	O-Et	O-CH ₃	C ₃ H ₇
13	B34	Cl	O-Et	O-CH ₃	C ₃ H ₇
14	B35	F	O-Et	O-CH ₃	C ₃ H ₇
15	B342	O-CH ₃	O-Et	H	O-CH ₃
16	АН 15	CH ₃	O-Et	O-CH ₃	H

Таблица 2 – Химические структуры фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот

Общие формулы		
<p>C1, C3</p>		<p>C2, C5</p>
№	Шифр соединения	R
1	C1	Et
2	C2	Et
3	C3	Ph
4	C5	Ph

Таблица 3 – Химические структуры фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов

Общие формулы				
<p>T6, T11, T13, T37, T38, T39, T42</p>			<p>T7, T8</p>	
№	Шифр	R	R ₁	R ₂
1	T6	H	S	NH
2	T7	NH ₂	–	–
3	T8	NH-Ph	–	–
4	T11	H	SC ₂ H ₂ ONHNH ₂	N
5	T13	Ph	SC ₂ H ₂ ONHNH ₂	N
6	T37	H	S	NCH ₂ C ₄ H ₈ NO
7	T38	CH ₂ CHCH ₂	S	NCH ₂ C ₄ H ₈ NO
8	T39	Ph	S	NCH ₂ C ₄ H ₈ NO
9	T42	C ₃ H ₅	SC ₂ H ₂ ONHNH ₂	N

Методы исследования

1) Метод компьютерного прогнозирования спектра биологической активности. Компьютерный прогноз возможных фармакологических эффектов проводили с использованием программы PASS (Поройков В.В., 2019). Результаты прогноза представлены в виде расчетной оценки вероятности

наличия активности (P_a) от 0,3 до 1. Считали, что при $P_a > 0,6$ вещество с высокой вероятностью проявит активность в эксперименте.

Экспериментальные методы. Поведенческие тесты. Изучение поведения животных осуществляли согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Миронов А.Н., 2012) с применением следующих методов: для исследования двигательной-исследовательской активности – «Открытое поле» (ОП); анксиолитической активности – «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Темно-светлая камера» (ТСК), «Конфликтная ситуация с водной депривацией»; антидепрессивного действия – «Поведенческое отчаяние» (ПО); влияния на процессы обучения и памяти – «Т-образный лабиринт» (ТОЛ), «Водный лабиринт Морриса» (ВЛМ). Для тестирования крыс в ВМА применяли тесты: «Открытое поле» расширенный (ОПР) – социальное поведение; «Закапывание шариков (ЗШ) – стереотипность поведения. Все поведенческие тесты проведены на установках компании ООО «НПК Открытая наука», Россия. Для регистрации поведения использована программа «EthoVision^{XT}» (Noldus, Нидерланды) (Sabatos–DeVito M., 2019).

Оценка противовоспалительной активности. Общепринятая модель воспаления – субплантарное введение λ -каррагинина (Sigma) в заднюю лапу мышей с последующей оценкой величины отека с использованием плетизмометра (ИТС Life Science, США).

Формирование вальпроатной модели аутизма. Для моделирования ВМА 15-ти самкам крыс линии Wistar на 12 день беременности подкожно вводили вальпроат натрия, 500 мг/кг (Конвулекс, G.L.PHARMA, Австрия). Исследования проводили на потомстве этих крыс по достижению ими 3-месячного возраста. Соединения вводили внутривентриально 7 дней, затем проводили поведенческое тестирование.

Статистический анализ. Статистический анализ проведён в программе GraphPadPrism 8.0.1. Для обработки результатов поведенческого тестирования применяли t-критерий Стьюдента. Результаты поведенческих тестов представлены как среднее (M) \pm стандартная ошибка среднего (SEM).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все исследуемые соединения по классификации Сидорова (Сидоров К. К., 1977) относятся к классам малотоксичных, практически нетоксичных или относительно безвредных веществ (LD_{50} от 315 мг/кг до 10000 мг/кг). Изучение нейрорепрессивных свойств проведено в дозах, составляющих 1/100 и 1/50 от LD_{50} .

При исследовании анксиолитической активности соединений ряда N-замещенных аммонийных солей арилфосфиновых кислот большинство соединений проявили активность в ПКЛ (рисунок 1А). Наибольшая активность была обнаружена у соединения АН15 в дозе 100 мг/кг, составляющей 1/50 от LD_{50} . Следует отметить, что вещества В15, В17, В342 были эффективны в обеих дозах, а В2, В4, В14, В16 проявили активность в более низкой дозе – 1/100 от LD_{50} . Эти соединения увеличивали время нахождения мышей в открытых рукавах (ОР) ПКЛ и их активность была сопоставима с феназепамом.

В ряду фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот в тесте ПКЛ были эффективны соединения С2 в дозе 100 мг/кг (1/100 от LD_{50}) и С5 в дозе 30 мг/кг (1/50 от LD_{50}) (рисунок 1 Б). Следует отметить, что соединение С5 было активно и в тесте ТСК, пролонгируя время нахождения в светлой камере в 1,3 раза ($p < 0,05$), а также в методе «Конфликтная ситуация с водной депривацией», увеличивая количество взятий воды из поилки в 2,8 раза ($p < 0,05$). Эти данные соотносятся с PASS, прогноз показал самую высокую вероятность анксиолитической активности в ряду у соединения С5=0,647. Другие соединения ряда также проявили эффективность в тестах ПКЛ и ТСК, что свидетельствует о наличии анксиолитических свойств в эксперименте и соотносится с прогнозом.

В ряду производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов выраженные анксиолитические свойства были выявлены у соединения Т8 в тестах ПКЛ (рисунок 1В) и ТСК. Программа PASS для этого вещества прогнозировала среднюю вероятность активности ($P_a=0,532$). Следует отметить, что эффективность этого соединения была сопоставима с таковой у феназепама. Структурный аналог фосеназид в эквитоксических дозах не проявил активности.

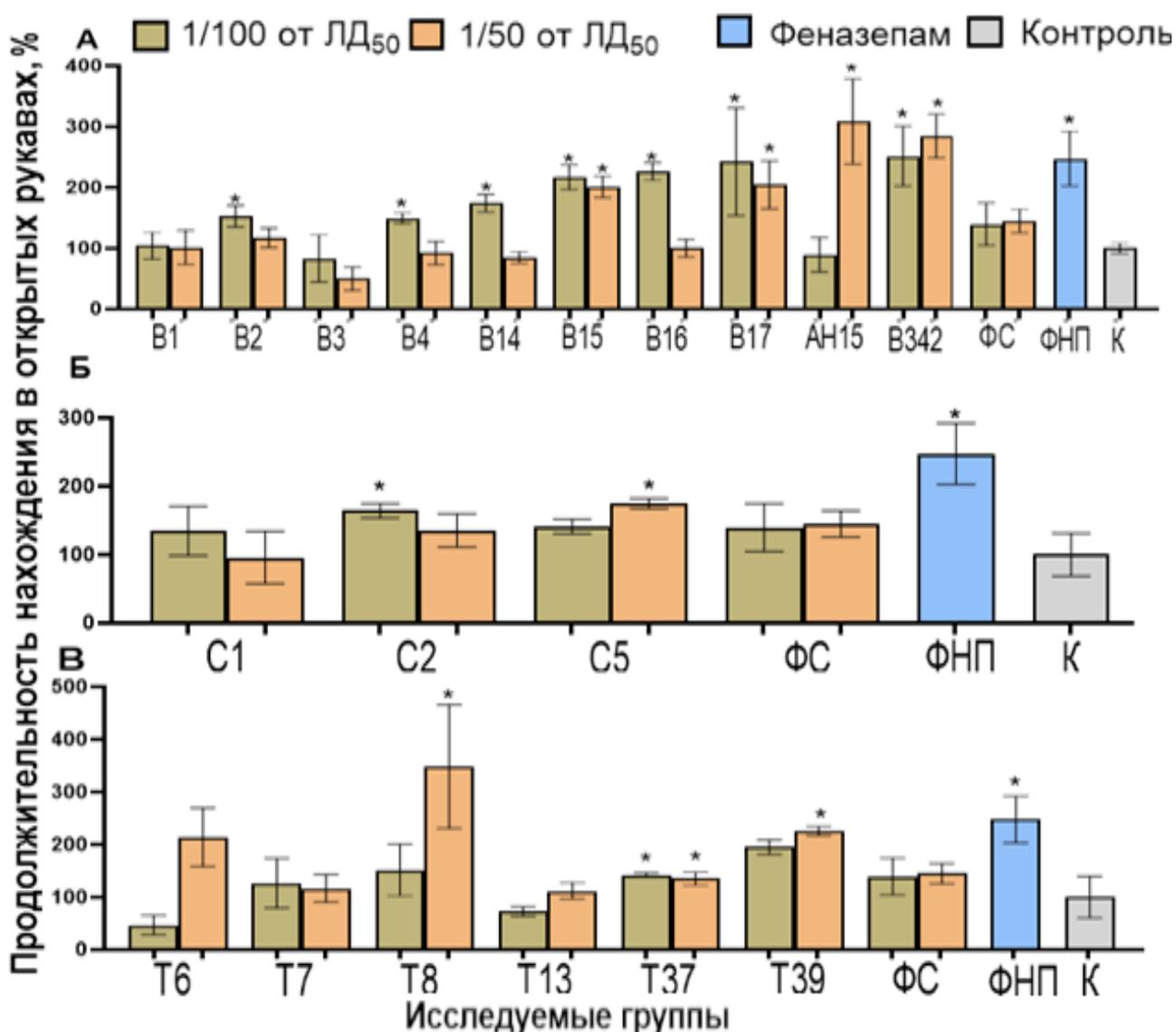


Рисунок 1 – Влияние N-замещенных аммонийных солей арилфосфиновых кислот (А), фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот (Б), фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их аналогов (В) на поведение мышей в тесте ПКЛ, где ФС – фосеназид, ФНП – феназепам

*($p < 0,05$) — статистически значимые отличия по отношению к показателям контрольной группы (К), принятым за 100%

Анализ антидепрессивной активности соединений представлен на рисунке 2. Как видно из рисунка, среди N-замещенных аммонийных солей арилфосфиновых кислот эффективность проявило соединение В3, которое в обеих дозах уменьшало длительность периодов «замирания» мышей в тесте ПО. Высокая вероятность для В3 спрогнозирована программой PASS $P_a=0,641$. Кроме того, в данном эксперименте проявили активность соединения В14, В27 и В35 (рисунок 2А), фосфорильная группа анионного фрагмента которых

содержит атом галогена (хлор или фтор) в параположении относительно атома фосфора.

Следует отметить, что соединение В17, которое проявило высокую анксиолитическую активность, напротив, статистически значимо увеличивало длительность периодов «замирания» мышей в обеих исследуемых дозах.

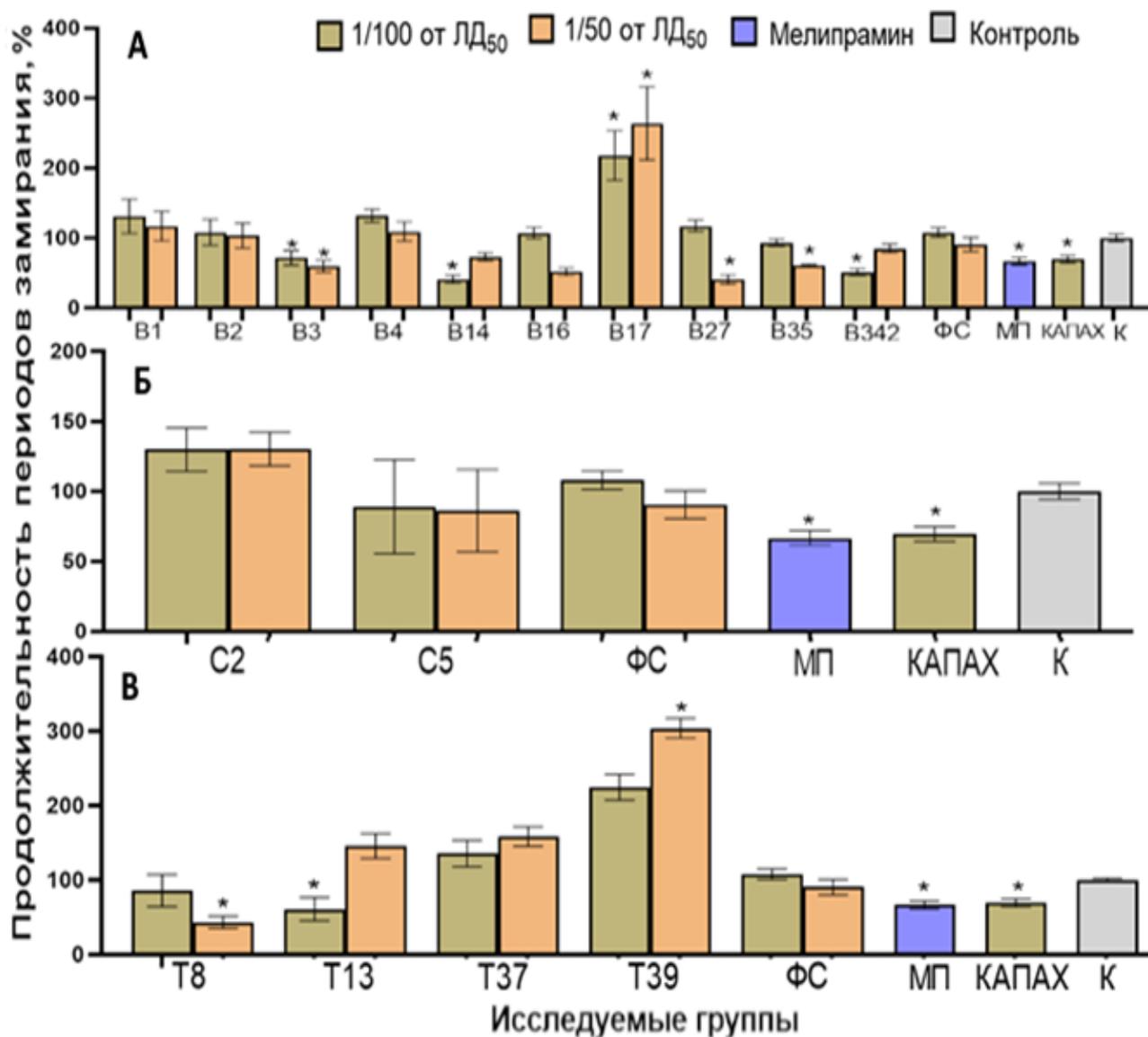


Рисунок 2 – Влияние N-замещенных аммонийных солей арилфосфиновых кислот (А), фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот (Б), фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их аналогов (В) на поведение мышей в тесте ПО, где ФС – фосеназид, МП – мелипрамин

*($p < 0,05$) – статистически значимые отличия по отношению к показателям контрольной группы (К), принятым за 100%

Вероятность наличия антидепрессивных свойств в диапазоне $0,3 < P_a < 0,6$ прогнозировалась для трех соединений ряда фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот, однако их активность в эксперименте в тесте ПО не была выявлена (см. рисунок 2Б).

Антидепрессивная активность не была спрогнозирована программой PASS или ее вероятность была ниже 0,3 ($P_a < 0,3$) для соединений ряда производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов, тем не менее, антидепрессивные свойства были выявлены у соединений Т8 и Т13. Эксперименты показали снижение периодов «замирания» у мышей при введении веществ Т8 и Т13 (см. рисунок 2В). Общим фрагментом в химической структуре данных соединений является наличие дополнительного фенильного заместителя в триазолтионной группе. Выраженность антидепрессивного действия этих соединений была сопоставима с препаратами сравнения антидепрессантом мелипрамином и эффективным структурным аналогом КАПАХ.

Для оценки влияния соединений на процессы обучения и памяти были отобраны вещества С1, В3, В4, АН15, Т8, Т38 на основании прогноза и исследовательской активности в ОП.

Результаты экспериментов представлены на рисунке 3. Наибольшую активность в ГОЛ проявили соединения Т8 в дозе 12 мг/кг (1/50 от ЛД₅₀) и АН15 (50 мг/кг и 100 мг/кг), которые уменьшали латентный период подхода к кормушке в 4,3 раза, 2,0 и 2,1 раза соответственно (рисунок 3А).

По результатам ГОЛ наиболее активные соединения АН15 и Т8, а также В3, как вещество с высокой вероятностью мнемотропной активности в PASS, были исследованы в тесте ВЛМ. Эксперименты в ВЛМ были проведены в двух режимах – на 4-й и 14-й дни введения соединений. На 4-й день вещества В3 в дозе 60 мг/кг (1/50 от ЛД₅₀), Т8 в дозе 6 мг/кг (1/100 от ЛД₅₀) и структурный аналог КАПАХ увеличивали время пребывания крыс в зоне расположения платформы в 1,6 ($p < 0,05$) раза, 1,8 ($p < 0,05$) и 1,3 ($p < 0,05$) раза соответственно (рисунок 3Б). Их активность сохранялась и после 14-дневного введения. Следует

отметить, что пирацетам и мемантин были эффективны только при многократном введении (рисунок 3В).

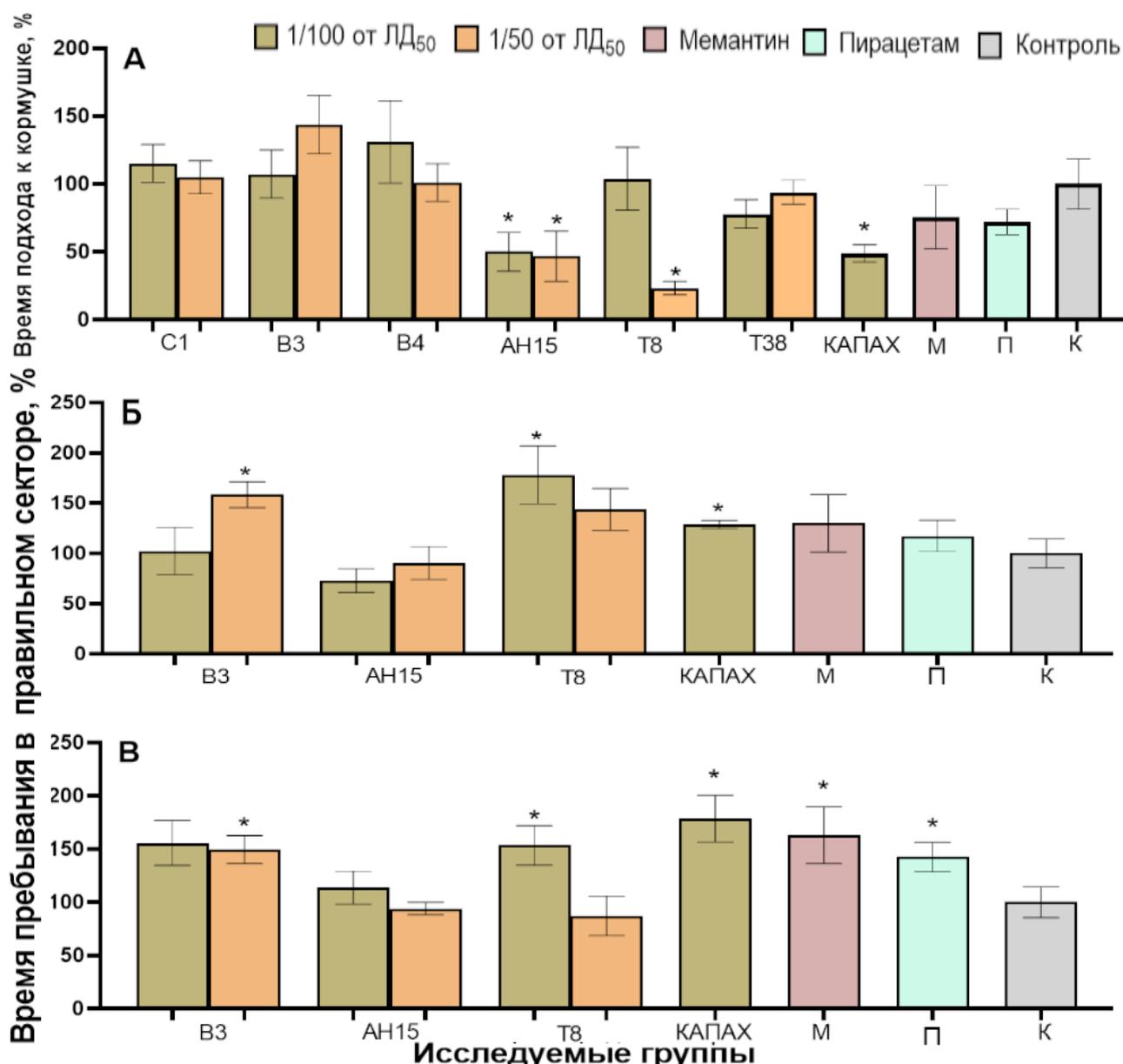


Рисунок 3 – Влияние исследуемых соединений на показатели обучаемости и памяти животных в тестах ТОЛ (А) и ВЛМ (при 4-х (Б) и 14-ти (В) дневном применении), где М – мемантин, П – пирацетам

*($p < 0,05$) – статистически значимые отличия по отношению к показателям контрольной группы (К), принятым за 100%

Известно, что для психотропных средств характерно наличие противовоспалительных свойств (Lazzarini R., 2003), поэтому была проведена оценка этой активности у веществ, проявивших психотропные свойства с учетом вероятности противовоспалительных эффектов в PASS – В1, В2, В3, В15, В17,

C5. Наибольшая активность отмечена у B15 и C5, которые через 3 часа уменьшали отек в 1,8 ($p < 0,05$) и 1,9 ($p < 0,05$) раза соответственно.

Противовоспалительное действие сохранялось через 4, 6 и 24 ч, а также после 14-дневного введения. Уменьшение интенсивности отека было отмечено при введении антидепрессанта мелипрамина – в 2,4 раза ($p < 0,05$) и диклофенака натрия – в 4,8 раза ($p < 0,05$). Феназепам в исследуемой дозе был неэффективен.

Основными поведенческими нарушениями при аутизме являются дефицит социального поведения и стереотипность, которые сопровождаются повышенной тревожностью (Lai M.C., 2015; Шевлякова В.И., 2020). Для исследования влияния на поведение крыс в ВМА были отобраны оптимальные соединения – B2 (прогноз PASS показал высокую вероятность анксиолитической, антидепрессивной, мнотропной, противовоспалительной активности), C5 (высокая анксиолитическая и противовоспалительная активность в эксперименте) и T8 (высокая анксиолитическая, антидепрессивная, мнотропная активность в эксперименте). Учитывая, что наличие и характер симптомов аутизма зависит от половой принадлежности (Lai M. C., 2015; Cho H., 2017), группы крыс в ВМА, которым вводили исследуемые соединения, были разделены по половому признаку.

Крысы в ВМА демонстрировали высокий уровень тревожности по сравнению с контрольными животными: отмечено статистически значимое уменьшение времени нахождения в ОР ПКЛ в 1,7 раза ($p < 0,05$) у самок и в 2,9 раза ($p < 0,05$) у самцов относительно контрольных животных. Анализ влияния соединений на уровень тревожности показал более высокую эффективность вещества T8, введение которого повышало длительность нахождения в ОР лабиринта самок и самцов по сравнению с показателями «нелеченых». Соединения B2 и C5, также как amitriptilin, корригировали состояние тревожности до уровня контрольных значений (рисунок 4А).

Состояние стереотипности исследовали в тесте ЗШ, который основан на склонности крыс в ВМА избавляться от посторонних, непривычных элементов в окружении (в данном случае, синих стеклянных шариков): чем больше шариков

закопано, тем сильнее выражена стереотипность. Установлено, что и у самок, и у самцов в ВМА количество закопанных шариков было в 1,9 ($p < 0,05$) и 1,7 раза ($p < 0,05$) соответственно больше по сравнению с контрольными животными. Все исследуемые соединения, а также amitriptilin и risperidon уменьшали уровень стереотипности, снижая число закопанных шариков в группах «леченых» крыс по сравнению с группами без «лечения» (рисунок 4Б).

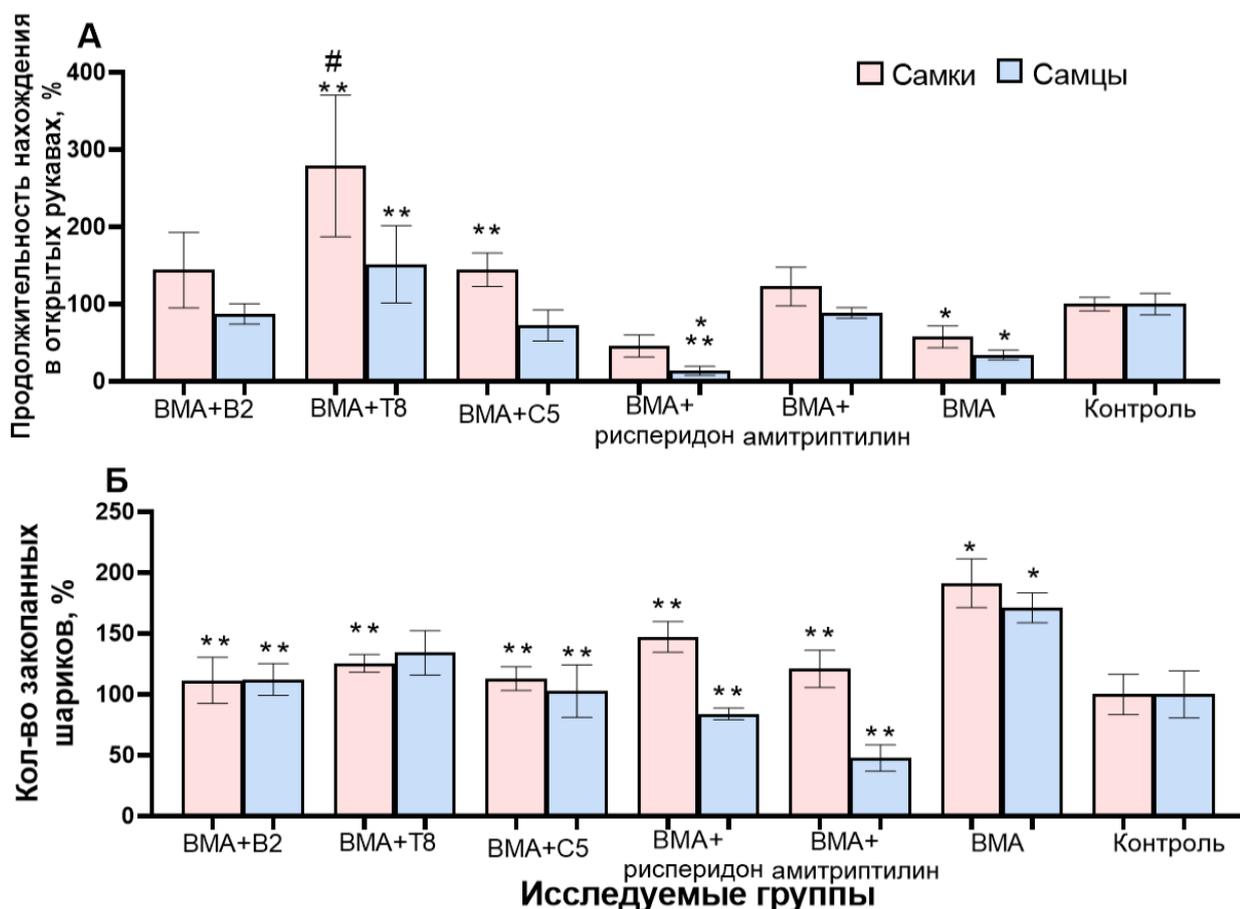


Рисунок 4 – Влияние 7-дневного введения соединений на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тестах ПКЛ (А) и ЗШ (Б)

* – статистически значимые отличия по отношению к крысам контрольной группы при $p < 0,05$;

** – статистически значимые различия по отношению к крысам без лечения (ВМА) при $p < 0,05$;

– тенденция к достоверности $0,05 < p < 0,1$ по отношению к контрольной группе

Дефицит социального поведения исследовали в тесте ОНР: во 2-ю сессию, после периода привыкания в поле, крысам предъявляли несоциальный объект (цилиндр), в 3-й сессии несоциальный объект был заменен на социальный

(незнакомую крысу), который, как и во 2-й сессии, у нормальных животных должен вызывать интерес.

Во 2-й сессии мы не увидели статистически значимых отличий между исследуемыми группами. В 3-й – самки и самцы в ВМА не проявляли интереса к социальному объекту, в отличие от контрольных, что выражалось в снижении продолжительности их нахождения в центре поля в 4,0 ($p < 0,05$) и в 2,3 ($p < 0,05$) раза соответственно. Соединения В2 и Т8 корригировали дефицит социального поведения, увеличивая длительность нахождения в центре поля у самцов в 5,2 ($p < 0,05$) и 6,4 ($p < 0,05$) раза соответственно по сравнению с самцами в ВМА без «лечения».

Анализ результатов исследований свидетельствуют о перспективности и необходимости дальнейшей разработки исследуемых рядов соединений, как потенциальных лекарственных средств, с применением комплексного подхода – компьютерного прогноза и экспериментальных исследований.

ВЫВОДЫ

1) Результаты прогноза с применением программы PASS показали вероятность наличия психотропной активности у 29 соединений: анксиолитической (Pa 0,385-0,952), мнемотропной (Pa 0,318-0,834), а также антидепрессивной (Pa 0,304-0,863) и противовоспалительной (Pa 0,35-0,71).

2) Экспериментальные исследования продемонстрировали наиболее выраженную психотропную активность у следующих соединений на поведенческих моделях у грызунов:

а) анксиолитическую: 2-этоксигидрокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этоксигидрокси-2-оксоэтил)фенилфосфиновой кислоты (В2, 21 мг/кг) и 2-этоксигидрокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этоксигидрокси-2-оксоэтил)(4-толил)фосфиновой кислоты (АН15, 100 мг/кг), в ряду N-замещенных аммонийных солей (2-этоксигидрокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот; дифенилфосфинилметангидразида (С5, 15 мг/кг и 30 мг/кг) в ряду фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот; 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-

карботиоамида (Т8, 6 мг/кг и 12 мг/кг) в ряду производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,4-триазол-3-тионов;

б) антидепрессивную: 2-этокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этокси-2-оксотил)(4-хлорфенил)фосфиновой кислоты – В3 (30 мг/кг и 60 мг/кг) среди N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот и Т8 (12 мг/кг) среди производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,4-триазол-3-тионов;

в) мнемотропную активность (улучшение памяти и обучаемости): В3 (60 мг/кг) и АН-15 (50 мг/кг и 100 мг/кг) среди N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот и Т8 (6 мг/кг и 12 мг/кг) среди производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,4-триазол-3-тионов.

3) Противовоспалительную активность проявляют соединения – представители ряда фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот: дифенилфосфинилметангидразид – С5 (15 мг/кг и 30 мг/кг); ряда N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот – В15 (50 мг/кг и 100 мг/кг), которые уменьшают выраженность каррагенинового отека лап мышей при однократном и многократном (14 дней) введении.

4) Дифенилфосфинилметангидразид (С5, 15 мг/кг), 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (Т8, 6 мг/кг) и 2-этокси-2-оксоэтанаммониевая соль (2-этокси-2-оксотил)фенилфосфиновой кислоты (В2, 21 мг/кг) улучшают поведенческие характеристики у крыс в вальпроатной модели аутизма: уменьшают состояние тревожности, корректируют нарушения социального поведения и снижают выраженность стереотипного поведения.

5) Анализ зависимости активности исследуемых соединений от их химической структуры показал:

а) среди N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновых кислот выраженность анксиолитической и мнемотропной активности зависит от природы катионного фрагмента; антидепрессивной – от

наличия атома фтора или хлора в паразоложении относительно атома фосфора в анионном фрагменте;

в) в ряду производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,4-триазол-3-тионов проявление психотропной активности зависит от наличия ароматического фрагмента в тиосемикарбазидной части молекулы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется углубленное изучение фармакологических эффектов 2-этокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этокси-2-оксотил)(4-хлорфенил) фосфиновой кислоты (В3), дифенилфосфинилметангидразида (С5) и 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамида (Т8), как потенциальных лекарственных препаратов для лечения патологий центральной нервной системы, включающих тревожные, депрессивные расстройства и нарушения когнитивных функций, а также коррекции дефицита социального поведения при РАС.

2. На основании выявленной зависимости структура-активность рекомендуется синтез новых соединений в рядах N-замещенных аммонийных солей арилфосфиновых кислот, фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот, а также фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов для создания лекарственных средств с различным спектром психотропной активности.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Планируется углубленное изучение эффективности оптимальных соединений на моделях психопатологических состояний с нарушением когнитивных функций (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), а также исследование механизмов действия их нейропсихотропной активности (влияние на экспрессию генов, взаимодействие с анализаторами, эффекты на трансгенных мышцах).

2. В рамках доклинических исследований планируется изучение хронической токсичности и безопасности применения запатентованного

соединения – дифенилфосфинилметангидразида (С5) как потенциального лекарственного средства.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Исследование психотропных свойств нового аналога транквилизатора фосеназида / Д. О. Никитин, **А. В. Плотникова**, Л. Ф. Галимова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 138–144.
2. Синтез N – замещенных аммонийных солей (2 – этокси – 2 – оксоэтил) фенилфосфиновой кислоты / И. А. Крутов, Д. Ф. Габдрахманова, **А. В. Плотникова** [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. – 2017. – Т. 20, № 13. – С. 23–24.
3. Никитин, Д. О. Компьютерный прогноз и изучение психотропной активности новых аналогов гидразида хлорэтоксипарилфосфорилуксусной кислоты (КАПАХ), обладающего ноотропной и антидепрессивной активностью / Д. О. Никитин, **А. В. Никитина**, Л. Ф. Галимова // Сборник материалов IV Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы». – Казань, 2017. – С. 161.
4. **Modification of diphenylphosphorylacetic hydrazide with thiosemicarbazide and triazole units / I. A. Krutov, E. L. Gavrilova, A. V. Plotnikova [et al.] // Russian Journal of General Chemistry. – 2017. – Vol. 87, No 12. – Pp. 2794–2800. DOI: 10.1134/S1070363217120076.**
5. Psychotropic properties of new analogues of the tranquilizer «phosenazid». / **A. V. Plotnikova**, D. O. Nikitin, I. I. Semina [et al.] // Сборник материалов III Российской конференции по медицинской химии. – Казань, 2017. – С. 20.
6. N–модификация 5–((дифенилфосфорил) метил)–1,2,4–триазол–3–тионов обладающих потенциальной нейротропной активностью / А. А. Валиева, И. А. Крутов, Д. О. Никитин, **А. В. Плотникова** // Сборник материалов XIX Международной научно–практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке». – Томск, 2018. – С. 182–183.

7. Введение фармакофорных фрагментов в биологически активные фосфорилуксусные кислоты / И. А. Крутов, А. А. Валиева, **А. В. Плотникова** [и др.] // Сборник материалов XIX Международной научно–практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке». – Томск, 2018. – С. 202–203.
8. Моделирование состояния аутизма у крыс и исследование возможности коррекции новыми соединениями различных поведенческих нарушений / Д. О. Никитин, **А. В. Никитина** // V Всероссийский научный медицинский форум студентов и молодых ученых «Белые цветы». – Казань, 2018. – С. 162.
9. **Никитина А. В.** Изучение психотропных свойств в новых рядах фосфорсодержащих соединений в зависимости от положения атома фосфора / **А. В. Никитина**, Д. О. Никитин // V Всероссийский научный медицинский форум студентов и молодых ученых «Белые цветы». – Казань, 2018. – С. 162.
10. К вопросу о психотропных свойствах новых производных фосфорилацетогидразидов – солей арилфосфиновых кислот / Д. О. Никитин, **А. В. Никитина**, И. И. Семина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 3. – С. 107–115.
11. Валеева, Е.В. Изменение экспрессии гена дофаминового рецептора 1 типа в мозге у крыс моделью аутизма / Е. В. Валеева, Ю. В. Лысова, Д. О. Никитин, **А. В. Никитина** // Сборник материалов VIII международного молодежного медицинского конгресса. – Санкт–Петербург, 2019. – С. 212.
12. Поведенческие нарушения у крыс с моделью аутизма. Мишени для коррекции лекарственными средствами / И. И. Семина, Д. О. Никитин, **А. В. Никитина** [и др.] // Сборник материалов V Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии». – Судак, 2019. – С. 82.
13. Изучение поведенческих нарушений у крыс с моделью аутизма и разработка подходов для их лекарственной коррекции / **А. В. Никитина**, Д. О. Никитин,

И. И. Семина, Е. В. Шиловская // Сборник материалов Международной конференции «Актуальные проблемы нейробиологии». – Казань, 2019. – С. 71–72.

14. **Никитина А. В.** Изучение эффектов новых соединений, содержащих четырехкоординированный атом фосфора, на поведенческих моделях в эксперименте / **А. В. Никитина**, Д. О. Никитин // Сборник материалов VII Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы». – Казань, 2020. – С. 158.

15. Никитин, Д. О. Исследование поведенческих нарушений у крыс с вальпровой моделью аутизма в зависимости от половой принадлежности и изучение генетических аспектов для корригирования лекарственными препаратами / Д. О. Никитин, **А. В. Никитина** // Сборник материалов VII Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы». – Казань, 2020. – С. 158 – 159.

16. **Никитина, А. В.** Изучение и сравнительный анализ противовоспалительной и психотропной активности новых производных фосфорилированных карбоновых кислот / **А. В. Никитина**, Д. О. Никитин // Сборник материалов VIII Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы». – Казань, 2021. – С. 1115–1116.

17. Патент 2783121 С1. Дифенилфосфинилметангидразид, обладающий биологической активностью, и способ его получения: №2021135379: заявл.: 09.11.2022: опубл. 30.11.2021 / Газизов М. Б., Писцова А. Л., Семина И. И., **Никитина А. В.**, Иванова С. Ю., Каримова Р. Ф., Хайруллин Р. А.

18. Половые различия у крыс в вальпроатной модели аутизма: нарушение социального поведения и изменение экспрессии гена *Drd1* в различных структурах мозга / И. И. Семина, Е. В. Валеева, **А. В. Никитина** [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2022. – Т. 72, № 6. – С. 862–879. DOI: 10.31857/S0044467722060089.

19. Никитин, Д. О. Изучение влияния новых производных фосфорилированных карбоновых кислот на основные поведенческие характеристики у здоровых

животных и у крыс в вальпроатной модели аутизма / Д. О. Никитин, А. В. Никитина // Сборник материалов X Международного молодёжного научного медицинского форума «Белые цветы». – Казань, 2023. – С. 1180 – 1181.

20. Sex Differences in Rats with the Valproate Model of Autism: Disturbances in Social Behavior and Changes in Drd1 Gene Expression in Various Brain Structures / I. I. Semina, E. V. Valeeva, A. V. Nikitina [et al.] // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2023. – Vol. 53, No 4. – Pp. 597–608. DOI 10.1007/s11055-023-01458-w.

21. Новые производные фосфорсодержащих соединений с аминокислотными и триазолтионными фрагментами – потенциальные лекарственные средства, улучшающие память и когнитивные функции / А. В. Никитина, И. И. Семина, А. З. Байчурина [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2023. – Т. 104, № 1. – С. 72–80. DOI: 10.37489/2587-7836-2023-1-24-32.

22. Поведенческая фармакология как основной подход в изучении эффективности потенциальных психотропных средств: анализ современных методов (обзор) / И. И. Семина, А. З. Байчурина, А. В. Никитина [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т.12, № 1. – С. 161–181. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181.

23. Исследование поведенческих эффектов новых фосфорилированных тиосемикарбазидов в эксперименте / А. В. Никитина, И. И. Семина, Д. О. Никитин [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2023. – № 3. – С. 71–79. DOI: 10.37489/2587-7836-2023-3-68-76.

24. Изучение влияния новых производных фосфорилированных карбоновых кислот на основные поведенческие нарушения у крыс в вальпроатной модели аутизма / А. В. Никитина, И. И. Семина, Д. О. Никитин [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2024. – Т.105, № 2. – С. 240-250. DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ119909>.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Pa – Вероятность наличия активности

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances

ВЛМ – Водный лабиринт Морриса

ВМА – Вальпроатная модель аутизма

ЗШ – Закапывание шариков

КАПАХ– 2–хлорэтокси–пара–N–диметиламинофенилфосфорилацетогидразид

ОП – Открытое поле

ОПР – Открытое поле расширенный

ОР – Открытые рукава

ПКЛ – Приподнятый крестообразный лабиринт

ПО – Поведенческое отчаяние

РАС – Расстройства аутистического спектра

ТОЛ – Т-образный лабиринт

ТСК – Темно-светлая камера