

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Казанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Семина Ирина Ивановна

Казань - 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
2.1. Объекты исследования	24
2.2. Методы исследования.....	26
2.2.1. Исследование «острой» токсичности.....	28
2.2.2. Исследование психотропной активности фосфорсодержащих соединений на поведенческих моделях мышей и крыс	29
2.2.3. Исследование противовоспалительной активности	33
2.2.4. Оценка эффектов соединений на нарушенное поведение крыс в вальпроатной модели аутизма.....	34
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	38
3.1. Компьютерное прогнозирование возможных фармакологических эффектов новых соединений с использованием компьютерной программы PASS Online	38
3.2. Показатели «острой» токсичности новых соединений на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора	42
3.3. Исследование влияния соединений на ЦНС	44
3.3.1. Влияние исследуемых соединений на поведение мышей в тесте «Открытое поле»	44
3.3.2. Исследование анксиолитической активности.....	47
3.3.3. Исследование антидепрессивной активности соединений на модели «Поведенческое отчаяние».....	53
3.3.4. Исследование способности соединений улучшать память и когнитивные функции на моделях «Т-образный лабиринт» и «Водный лабиринт Морриса»	56
3.4. Исследование противовоспалительной активности соединений	59
3.5. Изучение влияния соединений на нарушенное поведение крыс в вальпроатной модели аутизма.....	62
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	66
ВЫВОДЫ	74

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	76
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	77
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	78
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	79
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА	95
Приложение 1. Влияние N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на двигательную-исследовательскую активность мышей в тесте «Открытое поле»	98
Приложение 2. Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на двигательную-исследовательскую активность мышей в тесте «Открытое поле»	100
Приложение 3. Влияние фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов на двигательную-исследовательскую активность мышей в тесте «Открытое поле»	101
Приложение 4. Влияние аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»	102
Приложение 5. Влияние представителей трех рядов исследуемых соединений на поведение мышей в тесте «Тёмно-светлая камера»	103
Приложение 6. Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»	104
Приложение 7. Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Конфликтная ситуация с водной депривацией»	105
Приложение 8. Влияние фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»	106
Приложение 9. Влияние аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние».....	107

Приложение 10. Изучение влияния фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние».....	108
Приложение 11. Изучение влияния фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние».....	109
Приложение 12. Влияние исследуемых соединений на показатели обучаемости и памяти мышей в тесте «Т-образный лабиринт»	110
Приложение 13. Влияние однократного введения исследуемых соединений на показатели обучаемости и памяти крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса»...111	
Приложение 14. Влияние соединений на показатели обучаемости и памяти крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса» при 14-дневном введении.....112	
Приложение 15. Влияние новых фосфорсодержащих соединений на интенсивность каррагенинового отёка лапы мышей при однократном введении.....113	
Приложение 16. Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».....114	
Приложение 17. Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Закапывание шариков».....115	
Приложение 18. Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Открытое поле» расширенный.....116	

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы 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 (ЦНС) [86], включая неврозы с симптомами депрессии, тревожности, нарушения когнитивных функций и др. [117].

Кроме того, в последние годы существенно возросла распространенность расстройств аутистического спектра (РАС), которые сопровождаются повышенной тревожностью, депрессией, агрессией и дефицитом социального поведения [7].

Поскольку механизмы развития данных расстройств часто взаимосвязаны и включают совокупность симптомов, целесообразен поиск лекарственных средств (ЛС), способных оказывать комплексное воздействие на ЦНС [93, 128]. В связи с этим актуальной задачей является разработка потенциальных лекарственных препаратов с нейропсихотропной активностью, способных одновременно оказывать влияние на разные звенья патогенеза психических расстройств. Такими свойствами обладают производные фосфорилированных карбоновых кислот (ФКК) с четырехкоординированным атомом фосфора, который способен удерживать несколько функционально-активных групп [35, 36, 43, 67].

Установлено, что характер биологической активности напрямую зависит от структурных особенностей групп, которые входят в состав молекулы, и любая трансформация химической структуры приводит к изменению токсичности и биологической активности веществ [43]. Более того, широта исследований становится всё больше, в связи с освоением новых современных поведенческих

методик и появлением различных вариантов интерпретации полученных результатов.

Для оптимизации работы по исследованию потенциальных ЛС в последние годы активно используются методы компьютерного прогноза, такие как SuperPred, DRAR-CPI, SwissTargetPrediction, Prediction Activity Spectral for Substances (PASS), Pharma Expert и др. [34].

Большое распространение в настоящее время получила программа PASS. Данная программа позволяет анализировать широкий спектр биологической активности [33]. Ранее было показано, что программа PASS применима для производных ФКК [41].

Настоящая диссертационная работа посвящена поиску новых перспективных соединений, содержащих четырехкоординированный атом фосфора, среди N-замещенных аммонийных солей арилфосфиновых кислот, фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот, а также фосфорлированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов, с применением компьютерного прогноза и их экспериментального изучения как потенциальных лекарственных препаратов.

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 [35, 46, 69, 78]. и имеют мультитаргетный механизм действия [41, 43]. 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 исследования

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

Задачи исследования

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,-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, мнемотропных, 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,-триазол-3-тионов (T8) положительно влиять на нарушенное поведение крыс в ВМА

Теоретическая и практическая значимость работы

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 (РАС). Получен патент на изобретение на оптимальное соединение – дифенилфосфинилметангидразид (C5), 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 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».

Основные 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,-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-оксоэтил) фенилфосфиновой кислоты (В2) и дифенилфосфинилметангидразид (С5) корректируют поведенческие нарушения у крыс в ВМА.

3. Соединения 2-этокси-2-оксоэтанаммониевая соль (2-этокси-2-оксоэтил) (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 ЛС с анксиолитической, мнемотропной и антидепрессивной активностью.

Степень достоверности 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.

Апробация результатов исследования

Основные результаты диссертационного исследования доложены 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.).

Публикации

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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В последние годы, в связи с всеобщей урбанизацией, ростом числа стрессогенных факторов (таких как пандемия COVID-19, вооруженные конфликты), а также в силу старения населения наблюдается тенденция к увеличению встречаемости различных неврологических и психических расстройств, среди которых значимое место занимают психоэмоциональные и когнитивные нарушения [1, 40]. Важно отметить, что если когнитивные нарушения чаще встречаются в пожилом и старческом возрасте, то психоэмоциональные в равной степени затрагивают все слои населения [60].

К часто встречающимся психоэмоциональным нарушениям можно отнести депрессивные и тревожные расстройства. По последним данным распространенность депрессивных расстройств прогрессивно увеличивается и в последние десять лет составляет 10-25%. Большой разброс в данных связан с тем, что многие пациенты с подобными нарушениями не обращаются за помощью в медицинские организации [40, 42].

Депрессия является формой нарушения настроения и представляет собой психическое расстройство, характеризующееся патологически сниженным настроением, унынием, потерей интереса и удовольствия, а также функциональными и физическими нарушениями [38]. Стоит отметить, что современные депрессии, как правило, сложнокорректируемые и только у 30% всех пациентов удаётся достичь стойкой ремиссии [39]. Это связано с тем, что в настоящие дни все чаще встречаются атипичные формы депрессии, отличающиеся от классических появлением новых специфических признаков [88, 105, 122]. К наиболее распространенным симптомам атипичной депрессии можно отнести: повышение уровня тревожности, нарушение циркадного ритма, гиперфагию и увеличение массы тела, гиперсомнию [2, 3, 71, 87].

В основе современной терапии депрессии лежит структурированное психологическое лечение и медикаментозная помощь. Для лечения типичной

формы депрессии чаще всего применяют антидепрессанты, действующие на серотонинергические, норадренергические и дофаминергические системы [114, 130]. Лечение атипичной депрессии также начинают с антидепрессантов, используя более высокие дозы, как способ уменьшить сопутствующий тревожный синдром. Кроме того, используют дополнительные ЛС, для снижения сопутствующих симптомов, характерных для атипичной формы депрессии [105].

Тревожное расстройство также является распространенной клинической проблемой, способной значительно снизить качество жизни пациентов.

Под тревогой следует понимать эмоциональное состояние, возникающее в условиях неопределённой опасности, угрозы или ожидания неблагоприятного развития событий. Часто она сопровождается ощущением беспомощности, неуверенности в своих силах, а также потерей способности логически мыслить и решать проблемы. Тревогу можно разделить на физиологическую, ту, которую испытывают здоровые люди, и патологическую. Для патологической тревоги характерно длительное течение (более 4-х недель), отсутствие реакции на изменение внешней ситуации, изначально вызвавшей тревогу. Кроме того, патологическая тревога часто затрагивает двигательную, вегетативную, мотивационную и когнитивную сферу, что подтверждается наличием дополнительных симптомов [37].

Патогенез тревожных нарушений сложен и до конца не ясен. В центральной нервной системе тревога контролируется лимбической системой. Наиболее значимым нейромедиатором, который отвечает за уровень тревоги, принято считать γ -аминомасляную кислоту [96, 134].

Известно, что одними из основных препаратов для лечения тревожности являются бензодиазепины. Однако, в настоящее время наблюдается постепенный отход от их активного и длительного использования в связи с наличием значительных нежелательных явлений (риск толерантности и зависимости, выраженный седативный и миорелаксирующий эффекты, снижение концентрации внимания и памяти). Предпринимаются попытки использовать известные психотропные препараты из других групп для лечения тревожных расстройств:

антидепрессанты, атипичные нейролептики и др. В последнее время антидепрессанты являются основной группой препаратов лечения тревожности [130]. Высокие дозы антидепрессантов применяются для лечения отдельных видов тревожных расстройств, например, при обсессивно-компульсивном расстройстве. Однако и здесь не стоит забывать о возможных побочных реакциях. Так, например, для амитриптилина и других антидепрессантов, характерно кардиотоксическое действие [15]. Низкие дозы атипичных нейролептиков также способны снизить тревожность, но при их длительном применении существует риск поздней дискинезии и нарушений обмена веществ [134].

Следует обратить внимание на тот факт, что часто симптомы депрессии и тревожности сопутствуют друг другу. Согласно результатам исследования «Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression» (STAR*D) около половины пациентов с депрессивным расстройством имеют клинически значимый уровень тревоги [97]. Скрининг на сопутствующую патологию важен, поскольку такие пациенты подвергаются большему риску злоупотребления психоактивными веществами, хуже реагируют на лечение. Кроме того, депрессивные и тревожные расстройства относятся к факторам риска развития когнитивных нарушений [101, 103, 106].

Когнитивные нарушения, или же когнитивные расстройства представляют собой группу патологических состояний, возникающих при различных неврологических, соматических и психических заболеваниях. Они представляют собой нарушения высших интегративных функций центральной нервной системы, таких как память, внимание, мышление и др. Когнитивные расстройства характерны для таких заболеваний как старческая деменция, нейродегенеративные заболевания (болезнь Альцгеймера), нарушения мозгового кровообращения, тяжелые травмы мозга, различные психиатрические заболевания (депрессия, шизофрения), хромосомные нарушения (синдром Дауна, аутизм). Для лечения данной группы заболеваний в основном используются препараты ноотропного и нейропротекторного действия. Однако, следует отметить, что в настоящее время не существуют единого подхода к фармакологической коррекции когнитивных

нарушений. Так, в нашей стране используется большое количество ЛС, обладающих ноотропными, вазоактивными и антиоксидантными свойствами [49, 85, 91]. В то же время, согласно рекомендациям экспертов США, вышеуказанные препараты не имеют должной эффективности в терапии когнитивных расстройств, особенно сосудистого генеза [132]. В отношении лечения когнитивных нарушений, достигших степени деменции, мнения специалистов разных стран сходятся. Основной линией терапии в данном случае считаются антихолинэстеразные средства (ривастигмин, галантамин), а также антагонисты глутаматных NMDA-рецепторов (мемантин). Эти препараты способны влиять на ключевые причины и проявления когнитивных нарушений, а также способствуют улучшению качества жизни пациентов [81].

Кроме вышеописанных патологий, в настоящее время большое число исследований сосредоточено вокруг аутизма. Известно, что на протяжении многих лет отмечается стабильный рост РАС: с 60-ых до 90-ых годов 20 века – с 4 до 40 на 10000 детей [7]. В настоящее время, согласно статистике ВОЗ, аутизм встречается у каждого 160-го жителя нашей планеты [19].

Аутизм – нарушение психического развития, которое характеризуется повышенной тревожностью, дефицитом социального взаимодействия, а также стереотипностью [76, 120]. Подобные симптомы проявляются у детей еще до 3 лет, а постановка диагноза приходится в среднем на 12-15 месяцы жизни. Кроме того, часто основные симптомы сопровождаются сопутствующими симптомами, которые встречаются в среднем у трети всех пациентов: гиперактивность, гиперчувствительность к прикосновениям, агрессия и аутоагрессия, пониженная болевая чувствительность, боязнь всего нового, а также частые перемены настроения [65, 70].

Специфической особенностью РАС считаются стереотипные или же повторяющиеся действия, не относящиеся к характеру текущей ситуации. Как правило, данный симптом проявляется уже в раннем возрасте, усиливается по мере взросления и может препятствовать нормальному развитию. Стереотипные паттерны поведения могут сильно различаться по своему генезу. Так, они могут

быть зрительными (частое моргание), звуковыми (произнесение, где-либо услышанных слов или фраз), тактильными (различные трения, касания, или движения), вкусовыми (облизывания, покусывания), вестибулярными (раскачивания вперед-назад), обонятельными (навязчивое обнюхивание предметов), а также самоагрессивными (щипание, укусы, выдёргивание волос). Как правило, такое поведение носит либо защитно-успокаивающий характер, либо служит формой привлечения внимания окружающих и является следствием сложностей в проявлении эмоций [70, 75].

Не менее важное значение имеет такой симптом как асоциальность. Известно, что люди с РАС замкнуты, испытывают сложности в установлении дружеских отношений. У детей с аутизмом часто встречается задержка речевого развития. В совокупности данные особенности в поведении детей с РАС затрудняют приобретение социальных навыков, что нередко заставляет их проявлять больший интерес к предметам (несоциальным объектам), по сравнению с людьми (социальными объектами) [6].

Так, аутизм включает в себя комплекс симптомов и синдромов, что осложняет его диагностику и выбор соответствующей терапии [18]. Подобная ситуация обусловлена сложностью патогенетических процессов данного расстройства, имеющих гетерогенную природу, в результате чего запускается целый комплекс различных нарушений. Следует отметить, что проблема коррекции поведения пациентов с РАС осложняется еще и наличием половых различий: считается, что аутизм имеет большую распространенность среди лиц мужского пола, но у девочек протекает гораздо тяжелее, с более значительными социально-коммуникативными нарушениями [92]. Важную роль в успешности поиска подходов к коррекции поведения при аутизме играет выбор адекватной экспериментальной модели. Одной из самых распространенных и общепризнанных считается вальпроатная модель аутизма (ВМА), основанная на введении беременным самкам крыс вальпроевой кислоты [62, 65]. При этом, потомство данных крыс демонстрирует поведение, имеющее общие черты с основными

симптомами аутизма: преобладание тревожности и стереотипности, а также дефицит социального поведения [56, 62, 119].

В настоящее время проводится большое количество исследований для понимания молекулярных механизмов подобных нарушений, выявления потенциальных лекарственных мишеней и разработки подходов к коррекции поведенческих особенностей детей с РАС [92, 120]. Кроме того, создание и разработка инновационных лекарственных препаратов, проведение мероприятий, обеспечивающих демонстрацию достижений и вывод на рынок отечественной продукции фармацевтической промышленности является одним из приоритетных направлений государственной программы развития Российской Федерации [58].

Сегодня в практической медицине применяются нейролептики, антидепрессанты и ноотропные препараты, однако, они не вызывают необходимых фармакотерапевтических эффектов. Учитывая, что в развитии аутизма важную роль играют гены сразу нескольких важнейших нейротрансмиттерных систем, изменение экспрессии которых может привести к различным поведенческим нарушениям при аутизме [31], необходимы ЛС с мультитаргетным механизмом действия, способные одновременно воздействовать на разные звенья патогенеза.

Известно, что депрессия, тревожность и нейрокогнитивные нарушения часто сопутствуют друг другу, характеризуются сложностью и многокомпонентностью патологического процесса, их этиология до конца неизвестна. Кроме того, препараты, применяемые в настоящее время в терапии данных состояний, часто предполагают длительный, или же пожизненный приём, обладают низкими параметрами эффективности и безопасности и сопровождаются проявлением нежелательных лекарственных реакций [7, 32, 61]. Всё это диктует необходимость поиска новых соединений, способных оказывать комплексное воздействие, сохраняя при этом профиль безопасности.

Подобным механизмом действия обладают соединения, содержащие в своей структуре четырехкоординированный атом фосфора, который словно матрица, способен удерживать несколько функционально активных групп, каждая из которых может иметь свою точку приложения в патологическом процессе,

обеспечивая тем самым целостный подход в коррекции нарушений. Казанскими фармакологами ранее были проведены исследования по поиску биологической активности и оценке механизмов действия представителей данного класса соединений. Было показано, что фосфорсодержащие соединения проявляют различные психотропные свойства, имеют комплексный механизм действия и способны корригировать поведенческие нарушения животных в моделях болезни Альцгеймера в эксперименте [43, 64].

Кроме того, в настоящее время некоторые из них успешно используются в клинической практике.

Так, для представителя класса – димефосфона была установлена противосудорожная [9], противовоспалительная активность, доказано участие димефосфона в процессах метаболизма [21, 24], его антидотные свойства [16]. В эксперименте обнаружена способность препарата улучшать процессы обучения, а также его антиамнестическое действие [74]. В настоящее время препарат широко применяется в клинической практике: в неврологии и нейрохирургии, онкологии, кардиологии, пульмонологии, нефрологии, при рахите, ацидозах, инфекционных заболеваниях [8, 57].

Для представителя фосфорилированных ацетогидразидов – фосеназида, рекомендованного к клиническому применению, было установлено анксиолитическое [5, 23, 129], противэпилептическое [20], антидепрессивное, а также антиалкогольное действие [51]. Кроме того, у фосеназида была обнаружена способность улучшать память у детей с интеллектуально-мнестическими расстройствами [78].

Не менее значимым представителем является 2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенилфосфорилацетогидразид (КАПАХ). КАПАХ обладает широким спектром фармакологической активности: ноотропной, антидепрессивной, нейропротекторной и антигипоксической [43, 69].

Установлено, что применение КАПАХ в эксперименте улучшает когнитивные функции, как у здоровых животных, так и после влияния агентов,

вызывающих нарушения памяти и когнитивных функций. Антигипоксическое действие КАПАХ выявлено в широком диапазоне доз (от 1 до 100 мг/кг) [46, 69].

Учитывая полученные ранее данные о свойствах и механизмах действия ФАГ, целесообразно вводить различные функциональные группы, с целью получения эффективного и безопасного ЛС с психотропной активностью.

Известно, что определенный спектр биологической активности обусловлен в первую очередь структурными особенностями самой молекулы, а именно, наличием тех или иных фармакофоров. Так, согласно литературным данным, в реализации нейротропной активности большую роль могут сыграть диметиламиногруппа и арильный радикал, поскольку они часто присутствуют в молекулах соединений, обладающих антидепрессивной, транквилизирующей и другими видами психотропной активности [22, 98, 113]. Гидразидная группа также часто является частью соединений, обладающих антидепрессивными, анксиолитическими и мнемотропными свойствами [12, 52, 83]. Вышеперечисленные фармакофоры входят в состав новых фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот, что может определять наличие у них психотропной активности. Отличительным преимуществом новых соединений ряда N-замещённых аммонийных солей (2 – этокси – 2 – оксоэтил) арилфосфиновых кислот и ряда фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов является введение в структуру аминокислотного и триазолтионного фрагментов соответственно. Данные фрагменты обладают биологической активностью и их объединение с ФКК может привести к усилению фармакологических эффектов [80, 109, 125].

Так, в литературе приводится описание синтеза представителей аммониевых солей, в основе катионного фрагмента которых лежат эфиры аминокислот [72, 129]. Показано, что соединения такого типа проявляют психотропную активность и при этом обладают низкой токсичностью. Обнаружена ноотропная активность среди фосфорсодержащих производных медиаторных аминокислот. Показано, что конъюгация базовой аминокислоты с фосфорильным радикалом способствует ее эффективному транспорту в ЦНС и в то же время, не изменяет направленности

действия активных фармакофоров фосфорильного фрагмента. Биологическая активность таких соединений определяется в основном не базовой аминокислотой, а химическим строением молекулы в целом и способностью веществ взаимодействовать с различными биологическими субстратами в ЦНС. Показано, что фосфорилированные производные аминокислот АКФ-94 и АКФ-92 улучшали формирование навыков УРАИ, оказывали положительное влияние на обучаемость животных. Способность этих соединений улучшать обучаемость и память сочетается с антидепрессивными свойствами [64, 72].

Известно, что производные гидразина, такие как тиосемикарбазиды представляют научный интерес благодаря широкому спектру биологической активности. Соединения данного ряда способны оказывать противоопухолевое, противовирусное, антибактериальное действие, имеют антиоксидантную и антиатеросклеротическую активность [84, 121]. Интересно влияние соединений данного класса на ЦНС. Известно, что тиосемикарбазиды способны угнетать синтез гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) посредством ингибирования фермента глутаматдекарбоксилазы и увеличивать концентрацию глутамата в головном мозге, что может привести к изменению поведенческих функций, а также к активизации процессов обучаемости [124].

Широкий спектр фармакологической активности характерен также для триазолов и их производных. Известны противоопухолевые, антиоксидантные свойства представителей данного класса [125, 126]. Для 1,2,4-триазол-3-тионов характерна противосудорожная [80] и антидепрессивная активность [124, 127].

Для оптимизации экспериментальной работы по поиску новых потенциальных лекарственных препаратов в настоящее время активно применяются компьютерные методы дизайна. Сегодня существует большая регистрационная система Chemical Abstracts Service, содержащая информацию более чем о 138 млн. органических и неорганических веществах, описанных в литературе с начала XIX столетия. Кроме того, появление доступных баз данных, содержащих информацию о структуре и биологической активности химических соединений, побудило создание методов дизайна лекарств, позволяющих

проводить прогнозирование профилей биологической активности для новых, ранее не изученных веществ. Примерами таких методов являются программы PASS, SuperPred, DRAR-CPI, SwissTargetPrediction. Особую популярность в настоящее время имеет программа Prediction Activity Spectral for Substances – PASS. Многочисленными исследованиями была доказана применимость программы Prediction Activity Spectral for Substances для предоставления полной информации о биологической активности любого вещества [33, 35].

Для представления химической структуры соединений в программе были разработаны структурные дескрипторы. Один и тот же набор дескрипторов используется для анализа и прогнозирования всех видов биологической активности. Алгоритм прогнозирования начинается с генерации дескрипторов для вещества, затем первичные оценки вероятности каждого вида активности рассчитываются и представляются в виде таблицы, содержащей список биологической активности с соответствующими значениями вероятности [34].

В PASS биологическая активность оценивается только качественно в виде вероятностей P_a активности («to be active») и P_i неактивности «быть неактивным» («to be inactive»). При интерпретации результатов необходимо полагаться на следующие принципы:

- 1) Если $P_a > 0,7$, вещество с большой вероятностью проявит активность в эксперименте, но также есть вероятность того, что вещество является аналогом известного фармацевтического средства;
- 2) Если $0,5 < P_a < 0,7$, то вещество, скорее всего, проявит активность в эксперименте, но вероятность его сходства с известным лекарственным средством ниже;
- 3) Если $P_a < 0,5$, маловероятно, что вещество проявит активность в эксперименте. Однако, если наличие этой активности подтвердится в эксперименте, вещество может оказаться новым, неизвестным базам данных химическим соединением.

Иногда, анализируя прогнозируемый спектр биологической активности соединения, можно увидеть, что с одной стороны исследуемое соединение является

антагонистом определенной группы рецепторов, а с другой - агонистом. Такая неясность указывает на то, что вещество действительно взаимодействует с данным видом рецепторов, однако механизм его внутреннего действия не может быть выяснен программой PASS [33].

Согласно литературным данным, система PASS имеет ряд основополагающих директив:

- 1) Каждый атом в представленной молекуле должен быть обозначен соответствующим символом из Периодической таблицы элементов;
- 2) Каждая связь в молекуле должна быть либо ковалентной простой, либо двойной, или тройной;
- 3) В структуре прогнозируемой молекулы должно быть не менее 3-ех атомов углерода;
- 4) Структура изучаемого соединения должна быть строго однокомпонентная, т.е. система не предполагает обозначение ковалентно несбалансированных элементов, таких как Cl⁻.
- 5) Абсолютная молекулярная масса исследуемого соединения не должна превышать 1250 М.Е.

Необходимо принимать во внимание, что программа PASS прогнозирует возможность проявления биологической активности конкретным соединением, но не позволяет сделать каких-либо выводов относительно условий экспериментального тестирования (доза, путь введения, биологический объект, пол, возраст и т.п.), при которых подобный тип активности способен проявиться [59]. Таким образом, PASS позволяет сузить область экспериментального тестирования в отношении конкретных соединений, однако, любой прогноз следует подтверждать экспериментом. Ранее было показано, что прогноз программой PASS может быть использован для определения биологической активности производных фосфорилированных карбоновых кислот [41]. Поэтому прогноз программой PASS в рамках диссертационной работы был применен для трех рядов новых соединений на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора.

Роль нейровоспаления в развитии нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофической склероз, болезнь Паркинсона и др. известна уже давно [104, 115]. В последние годы появляется все больше данных о роли нейровоспаления в реализации заболеваний, в патогенезе которых ранее не учитывалась важность воспалительных механизмов. К таким патологиям ЦНС можно отнести: тяжелые формы депрессий, расстройства аутистического спектра, шизофрению [115].

Известно, что некоторые психотропные средства обладают противовоспалительной активностью. Так, согласно литературным данным, трициклические антидепрессанты подавляют воспалительную реакцию в широком диапазоне доз и в нескольких временных точках в отличие от флуоксетина, противовоспалительный эффект которого фиксируется в экспериментах на модели каррагенинового воспаления лап только в высоких дозах на сроке максимального развития отека. В этом же исследовании для сертралина, напротив была обнаружена провоспалительная активность [82].

Диазепам, транквилизатор бензодиазепинового ряда, способен оказывать выраженное противовоспалительное действие в высоких дозах (10-20 мг/кг), однако этот эффект не сохраняется при длительном применении диазепама [116]. Также в литературе описана активность дневного транквилизатора мебикара, который оказывает выраженное и продолжительное противовоспалительное действие в дозах 10 и 100 мг/кг [73]. Учитывая роль воспаления в патогенезе многих патологий ЦНС, в рамках диссертационного исследования были проведены эксперименты по поиску противовоспалительной активности у соединений, проявивших психотропные свойства при проведении поведенческих тестирований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования явились 3 ряда фосфорсодержащих соединений:

- 1) N-замещённые аммонийные соли (2 – этокси – 2 – оксоэтил) арилфосфиновых кислот (16 соединений) (таблица 1);
- 2) Фосфорилированные производные уксусной и муравьиной кислот (4 соединения) (таблица 2);
- 3) Фосфорилированные производные тиосемикарбазидов и их циклических аналогов (9 соединений) (таблица 3).

При исследовании психотропной активности новые фосфорсодержащие соединения вводили внутривенно (в/в) за 30 мин до тестирования в дозах, составляющих 1/100 и 1/50 от ЛД₅₀. В качестве структурных аналогов для сравнительной оценки активности были использованы ранее исследованные соединения группы фосфорилацетогидразидов – фосеназид и КАПАХ. При проведении экспериментов в рамках диссертационной работы использовали препараты сравнения в дозах, показавших наибольшую активность в экспериментах, согласно литературным данным. В качестве препарата сравнения при исследовании анксиолитических свойств использовали транквилизатор бензодиазепинового ряда - феназепам (1 мг/кг; «ОАО Новосибхимфарм», Россия) [10, 15], при исследовании антидепрессивной активности – имипрамин (7 мг/кг; Мелипрамин ОАО «Эгис», Венгрия) [53], при исследовании влияния соединений на обучение и память – пирацетам (100 мг/кг; ОАО «Органика», Россия) и мемантин (10 мг/кг; Меманейрин ЗАО «БИС», Россия) [27, 45], при оценке противовоспалительной активности – диклофенак натрия (8 мг/кг; ООО «Немофарм», Россия) [55]. При проведении экспериментов по изучению влияния новых фосфорсодержащих соединений на нарушенное поведение крыс в ВМА в качестве препаратов сравнения использовали антидепрессант amitriptilin (4

мг/кг; Московский эндокринный завод, Россия) [63] и нейролептик рисперидон (1 мг/кг; Янссен Фармацевтика НВ, Бельгия) [119].

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

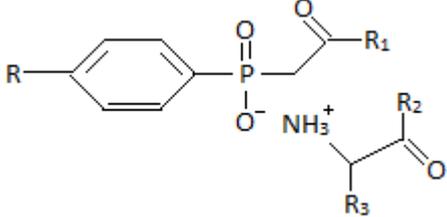
Общая формула					
					
№	Шифр	R	R ₁	R ₂	R ₃
1	B1	H	NH-NH ₂	NH-NH ₂	CH ₃
2	B2	H	O-Et	O-Et	H
3	B3	Cl	O-Et	O-Et	H
4	B4	Cl	NH-NH ₂	NH-NH ₂	CH ₃
5	B14	F	O-Et	O-Et	H
6	B15	H	O-Et	CH ₃	O-CH ₃
7	B16	Cl	O-Et	O-CH ₃	CH ₃
8	B17	F	O-Et	O-CH ₃	CH ₃
9	B27	Cl	O-Et	O-CH ₃	Ph-CH ₂
10	B28	F	O-Et	O-CH ₃	Ph-CH ₂
11	B29	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

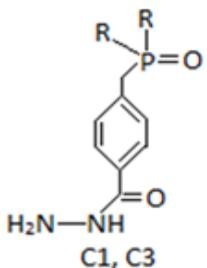
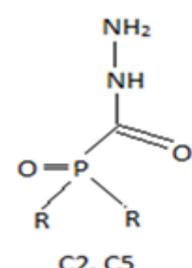
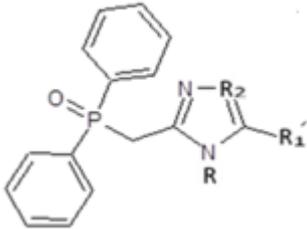
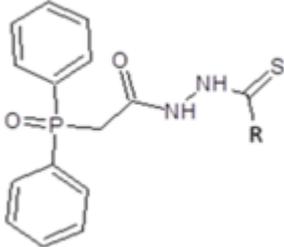
Общие формулы		
 <p>C1, C3</p>	 <p>C2, C5</p>	
№	Шифр соединения	R
1	C1	Et
2	C2	Et
3	C3	Ph
4	C5	Ph

Таблица 3 – Химические структуры фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2– триазол – 3– тионов

Общие формулы				
				
Т6, Т7, Т8, Т37, Т39, Т42		Т7, Т8		
№	Шифр	R	R ₁	R ₂
1	Т6	H	S	NH
2	Т7	NH ₂	–	–
3	Т8	NH-Ph	–	–
4	Т11	H	SC ₂ H ₂ ONHNH ₂	N
5	Т13	Ph	SC ₂ H ₂ ONHNH ₂	N
6	Т37	H	S	NCH ₂ C ₄ H ₈ NO
7	Т38	CH ₂ CHCH ₂	S	NCH ₂ C ₄ H ₈ NO
8	Т39	Ph	S	NCH ₂ C ₄ H ₈ NO
9	Т42	C ₃ H ₅	SC ₂ H ₂ ONHNH ₂	N

2.2. Методы исследования

Эксперименты были проведены на 2836 белых нелинейных мышах-самцах, массой 18-24 г., а также 378 крысах линии Wistar, массой 200-300 г. Лабораторные животные были получены из питомника Филиал «Столбовая» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». До начала экспериментов все животные содержались в стандартных условия вивария с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997г.), «Правил надлежащей лабораторной практики», утвержденных приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016, а также методических указаний по изучению действия психотропных веществ [13, 14]. Проведение диссертационного исследования было одобрено

локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России [Протокол заседания №10 от 19.12.2017].

За 24 часа до проведения каждого эксперимента животных опытных и контрольных групп в домашних клетках переносили из вивария в лабораторию, где они оставались до начала тестирования. Исследования проводили в звукоизолированной комнате с постоянным световым режимом, без доступа естественного освещения, или непосредственного присутствия экспериментатора. После тестирования каждого животного осуществляли дезодорацию поверхности установки с использованием 3% перекиси водорода. После каждой группы животных установку обрабатывали 70% раствором этанола. В «сухих» тестах первой в установку помещали мышь «нулевой» группы с целью уравнивания условий тестирования (по запаховым меткам) между первым и последующими животными. Дизайн диссертационного исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 - Общий план - дизайн исследования

На первом этапе для оптимизации отбора новых потенциальных ЛС и выявления наиболее активных соединений, способных улучшать когнитивные функции, обладающих анксиолитическими, антидепрессивными,

противовоспалительными свойствами, был проведен прогноз фармакологической активности 48 соединений с использованием компьютерной программы: Prediction Activity Spectral for Substances (PASS). По результатам прогноза были отобраны 29 соединений, активность которых была исследована в экспериментах на животных. Первым при проведении экспериментальных исследований был выбран тест «Открытое поле», который можно считать скрининговым, позволяющим определить общее влияние новых соединений на поведение животных. На основании результатов компьютерного прогноза и тестирования в «Открытом поле», для каждого из отобранных соединений были определены тесты, направленные на выявление у них наиболее вероятной активности: анксиолитической, антидепрессивной, мнотропной и противовоспалительной. На третьем этапе были исследованы три наиболее активных вещества, с экспериментально выявленными психотропными свойствами, по одному из каждого ряда, на предмет возможности коррекции поведенческих изменений у крыс в ВМА [28, 48, 50]. В экспериментах были использованы методы, характеризующие изменения в поведении животных, подобные основным симптомам аутизма у детей: повышенного уровня тревожности и стереотипности и нарушений социальной коммуникации [62].

Выбор поведенческих методик при проведении диссертационного исследования осуществляли согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств», а также согласно современным литературным данным [12, 13, 44, 54, 112, 118, 131].

2.2.1 Исследование «острой» токсичности

Токсичность всех исследуемых веществ определена в опытах на белых мышках-самцах, весом 18–22г. Токсичность соединений В2, В3, АН15, С1, С5 и Т8 определена также на крысах-самцах массой 200-300 г. Свежеприготовленные растворы соединений вводили путем в/б инъекций. Соединения, плохо растворимые в воде, вводили животным в виде суспензий. В качестве эмульгатора использовался Твин–80. При исследовании параметров острой токсичности все

исследуемые дозы были введены 6 мышам. Для каждого соединения определяли дозу, не вызывавшую гибель животных (максимально толерантная доза, ДМТ) и дозу, которая вызывала гибель всех животных (абсолютно-смертельная доза, ЛД₁₀₀). Также были определены промежуточные дозы, введение которых приводило к гибели части животных. Полученные данные были обработаны методом «накопления частот» по Беренсу. Среднюю смертельную дозу (ЛД₅₀) определяли графически, а ее ошибку по формуле Гэддама:

$$S_{\text{ДЛ } 50} = \sqrt{\frac{K * s * d}{n}} \quad (1)$$

, где K – коэффициент, для метода Беренса (0,66);

S – стандарт распределения: $\frac{\text{ДЛ}_{84} - \text{ДЛ}_{16}}{2}$ (2)

d – интервал между испытываемыми дозами;

n – число животных в группе.

2.2.2 Исследование психотропной активности фосфорсодержащих соединений на поведенческих моделях мышей и крыс

Тест «Открытое поле» часто применяется для скрининга новых веществ с потенциальной психотропной активностью, позволяет определить влияние исследуемых соединений на степень тревоги, двигательной и исследовательской активности животных [54].

Установка «Открытое поле» («НПК Открытая наука»), Россия – круглая камера, пол которой разделён линиями на сектора равной площади. В полу установки находятся отверстия, имитирующие норки, диаметром 2 см. Тестирование начинали с помещения мышей в центр установки, после чего за три минуты регистрировали:

- 1) Количество пересеченных линий, что отражает уровень возбуждения (двигательная активность);
- 2) Число обследованных отверстий, что отражает уровень исследовательской активности.

Для выявления соединений с анксиолитическими свойствами применяли следующие поведенческие методы: «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Тёмно-светлая камера» и «Конфликтная ситуация с водной депривацией».

А) «Приподнятый крестообразный лабиринт» - самая популярная и наиболее чувствительная методика для исследования тревожности у грызунов [100]. Установка («НПК Открытая наука», Россия) представляет собой объединение четырех пластиковых отсеков – «рукавов», два из которых окружены с трех сторон непрозрачными стенками - «закрытые рукава», а два не имеющие стенок – «открытые рукава». В норме животные проводят большее количество времени в закрытых рукавах лабиринта, поскольку считают их более безопасными [99, 135]. Продолжительность тестирования для каждой мыши составляла пять минут. Животное помещали в центр лабиринта, носом к открытому рукаву. За время тестирования регистрировали продолжительность пребывания мышей в открытых «рукавах» лабиринта, как показатель уровня тревожности [135]. Критерием фиксации захода в определённый отсек считали наличие всех лап животного внутри рукава.

Б) «Тёмно-светлая камера» - методика, основанная на стремлении грызунов избегать ярко освещённых мест и по основным принципам близка методике «ПКЛ». Установка («НПК Открытая наука, Россия») представляет собой две сообщающиеся камеры. Одна из них внутри окрашена в черный цвет, закрыта крышкой и считается тёмной камерой. Другая окрашена в белый цвет, не имеет крышки и считается светлой камерой. Тёмная камера является аналогом убежища для животного и более комфортна для его пребывания, в то время как светлая часть считается потенциально опасной. Известно, что соединения с анксиолитической активностью способны увеличить время нахождения грызунов в светлой части, а также количество переходов из одного отсека в другой [25].

При проведении экспериментов были использованы следующие показатели люксметра: 2 люкс в темной камере, 400 люкс в светлой. Мышей помещали в светлую камеру и в течении 5 минут фиксировали их общее время пребывания в светлой части установки.

В) «Конфликтная ситуация с водной депривацией» основана на конфликте питьевой и оборонительной мотиваций. Это означает, что для удовлетворения жажды грызуны должны преодолеть чувство страха [4]. Установка («НПК

Открытая наука», Россия) представляет собой камеру с электродным полом и поилкой с водой, установленной в стене.

Перед проведением тестирования в течение двух суток мыши были лишены воды, при этом кормление осуществлялось в обычном режиме. Через сутки после начала эксперимента у животных проводили выработку навыка взятия воды из поилки, которая находилась в камере с электродным полом. На следующий после выработки навыка день, при проведении непосредственно тестирования через 10 с после взятия воды осуществлялась подача электрического тока по полу камеры (сила тока 0,25 мА). Так, каждая последующая попытка животным взятия воды из поилки становилась наказуемой. Каждое животное тестировали в течение 10 минут [4]. В ходе тестирования фиксировали число наказуемых взятий воды. Повышение данного показателя свидетельствует о наличии некоторой анксиолитической активности у исследуемых соединений.

Исследование антидепрессивной активности веществ осуществляли на модели «Поведенческое отчаяние».

«Поведенческое отчаяние» (тест принудительного плавания) впервые был предложен R. Porsolt в 1977 году и наиболее широко используется при скрининге антидепрессантов. Установка «Поведенческое отчаяние» («НПК Открытая наука», Россия) представляет собой прозрачные цилиндрические сосуды (диаметром 10 см и высотой 30 см), наполненные водой на 15 см, температура которой 21°C. Метод был основан на том, что мыши, будучи помещенными в прозрачный цилиндр, наполненный водой, из которого невозможно выбраться, после начального периода интенсивной активности довольно быстро прекращают попытки и просто «замирают», выполняя только движения, необходимые для удержания головы над водой. Это состояние и принято считать поведенческим отчаянием [17].

В ходе тестирования мышей помещали в цилиндры с водой на 6 мин и регистрировали периоды «замирания». Считается, что введение антидепрессантов сокращает длительность периодов «замирания», что является основным показателем антидепрессивного действия [44].

Для выявления соединений, способных улучшать обучаемость и память, были использованы следующие поведенческие методы: «Т-образный лабиринт» на мышах и «Водный лабиринт Морриса» на крысах.

А) «Т-образный лабиринт» позволяет исследовать рабочую (кратковременную) и долговременную пространственную память, используя процессы обучения с положительным подкреплением.

Установка «Т-образный лабиринт» («НПК Открытая наука», Россия) представляет собой закрытый с боковых сторон горизонтальный Т-образный аппарат со стартовым (основание) и боковыми рукавами.

При проведении экспериментов сначала мышей помещали на 5 минут в лабиринт для адаптации, а затем проводили обучение с пищевым подкреплением. В качестве приманки использовали сырны сухарики. На этапе обучения (выработки пищевого рефлекса) мышей, с пищевой депривацией в течение 48 часов, помещали в стартовый отсек «Т-образного лабиринта», в одном из рукавов которого находилась кормушка с пищей. Через 30 сек открывали дверцу стартового отсека, где щелчок открывания двери служил условным раздражителем. Критерием выработки у мышей положительного рефлекса в дни обучения считали не менее 7 правильных попыток выбора ими рукава из 10 предъявляемых [44]. Обучение проводили в течение четырех дней. На пятые сутки у мышей с выработанным положительным рефлексом проводили тестирование, в процессе которого регистрировали время, потраченное животным на поиск кормушки.

Б) «Водный лабиринт Морриса» - универсальный способ оценки когнитивных функций у грызунов, особенно при выявлении отклонений в процессах обучения и памяти.

Установка «Водный лабиринт Морриса» («НПК Открытая наука», Россия) представляет собой круглый бассейн, в одном из секторов которого на уровне два сантиметра под водой располагается платформа размером 10x10 см. Чтобы избежать зрительного контакта крыс с платформой, воду в бассейне окрашивали сухим молоком и при помощи термостата поддерживали ее постоянную температуру на уровне 25°C. С целью ориентации животных в бассейне

использовали набор из четырёх зрительных символов, расположенных по периметру согласно сторонам света: север, юг, запад, восток [133]. В дни обучения платформу помещали в определенное место относительно внешних визуальных ориентиров (середина одного из четырёх секторов) [11].

На первом этапе для каждой крысы ежедневно проводили по три сессии обучения в течение трёх дней. В дни обучения, если в течение минуты животное не находило платформу, ему ее показывали. На четвертый день, после окончания процесса обучения, проводили непосредственно тестирование. Для этого платформу убрали из бассейна и для каждой крысы в течение одной минуты регистрировали время (с) нахождения в «правильном секторе» (сектор, где в дни обучения находилась платформа). Данный показатель являлся критерием оценки «силы пространственной памяти» (насколько хорошо крыса запомнила место нахождения платформы из предыдущих обучающих испытаний). Оценивали скорость движения (см/с) и пройденный путь (см) в качестве дополнительных параметров [11].

2.2.3. Исследование противовоспалительной активности

Для оценки противовоспалительного действия использовали общепринятую модель воспаления – субплантарное введение каррагинина –лямбда (Σ) в заднюю лапу в объёме 0,1 мл 1% раствора. Величину отёка определяли по разнице объёма до введения провоспалительного агента и через 1,2,3,4,6 и 24 часов после его введения путём опускания лапы животного до тибготарзального сустава в сосуд плетизмометра ИТС Life Science (США). Введение исследуемых соединений осуществляли в/б за 30 минут до введения провоспалительного агента в дозах 1/100 и 1/50 от ЛД₅₀. В качестве препарата сравнения применялся ампульный раствор Диклофенака натрия (Немофарм, Россия) в дозе 8 мг/кг. При проведении хронического эксперимента, исследуемые соединения вводили в течение 14 дней, после чего эксперимент на модели каррагининового отёка был повторён [73].

2.2.4. Оценка эффектов соединений на нарушенное поведение крыс в вальпроатной модели аутизма

В качестве прототипа аутизма использовали вальпроатную модель аутизма. Известно, что у крыс в данной модели возникают изменения поведения, схожие с основными симптомами аутизма у людей: повышение уровня тревожности, числа стереотипных паттернов и нарушение социальной коммуникации [62].

Для формирования ВМА вальпроат натрия (Конвулекс, G.L.PHARMA, GmbH, Австрия) вводили 15 самкам-крыс линии Wistar подкожно в дозе 500 мг/кг на тринадцатый день беременности, т.к. именно этот период считается критическим для эмбрионального развития, и на него приходится пик нейрогенеза в экспрессии генов в нейромедиаторных системах [102]. Беременным самкам контрольной группы на том же сроке, в том же объеме вводили подкожно физиологический раствор. Исследования проведены на потомстве этих крыс при достижении ими возраста 90 ± 5 дней.

Дизайн эксперимента представлен на рисунке 2.

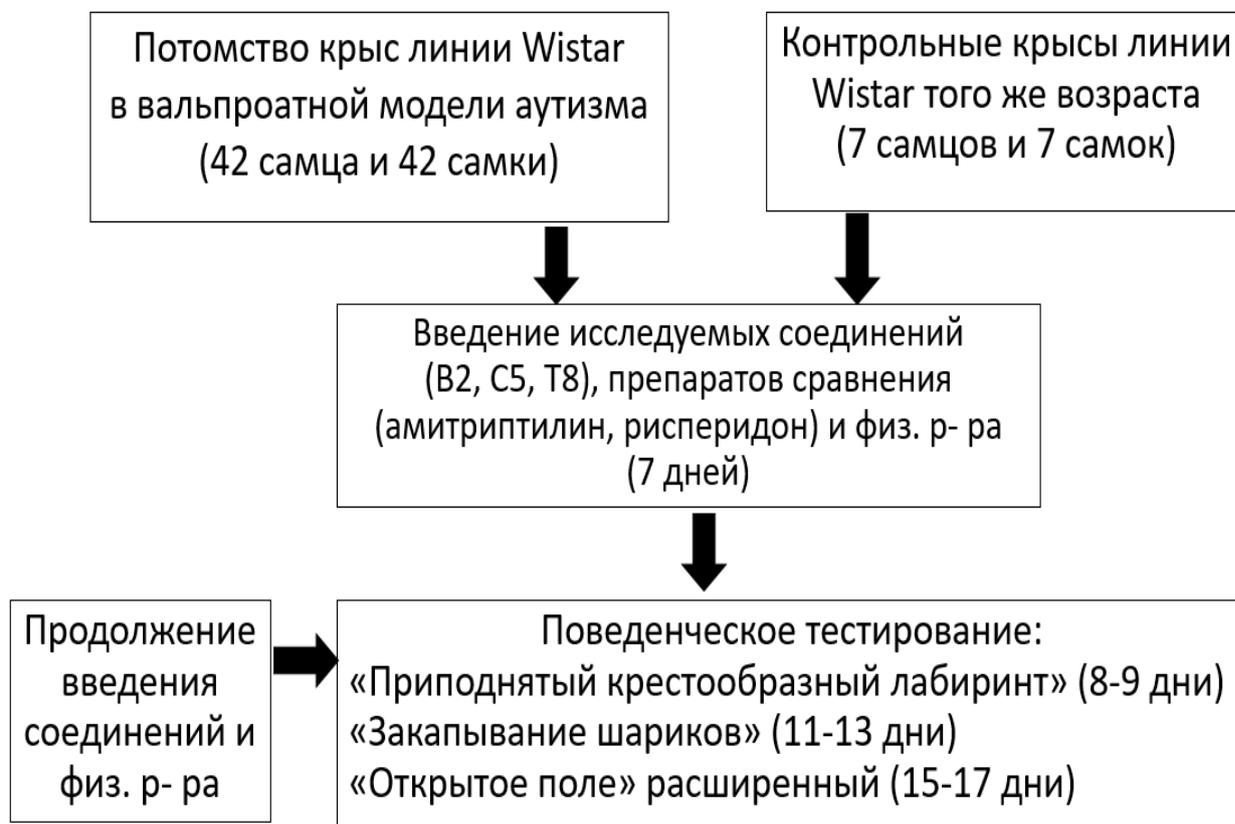


Рисунок 2 - Дизайн эксперимента

Достигнув возраста 90 дней, крысы были разделены на 14 групп, по 7 животных в каждой, которым в течение недели в/б вводили исследуемые соединения в дозах, составляющих 1/100 от ЛД₅₀, препараты сравнения или физиологический раствор:

- 1) самки в ВМА, получавшие в/б инъекции соединения В2 в дозе 21 мг/кг;
- 2) самцы в ВМА, получавшие в/б инъекции соединения В2 в дозе 21 мг/кг;
- 3) самки в ВМА, получавшие в/б инъекции соединения С5 в дозе 15 мг/кг;
- 4) самцы в ВМА, получавшие в/б инъекции соединения С5 в дозе 15 мг/кг;
- 5) самки в ВМА, получавшие в/б инъекции соединения Т8 в дозе 6 мг/кг;
- 6) самцы в ВМА, получавшие в/б инъекции соединения Т8 в дозе 6 мг/кг;
- 7) самки в ВМА, получавшие в/б инъекции amitriptiline в дозе 4 мг/кг;
- 8) самцы в ВМА, получавшие в/б инъекции amitriptiline в дозе 4 мг/кг;
- 9) самки в ВМА, получавшие в/б инъекции risperidone в дозе 1 мг/кг;
- 10) самцы в ВМА, получавшие в/б инъекции risperidone в дозе 1 мг/кг;
- 11) самки в ВМА, получавшие в/б инъекции физиологического раствора;
- 12) самцы в ВМА, получавшие в/б инъекции физиологического раствора;
- 13) здоровые (контрольные) самки, получавшие в/б инъекции физиологического раствора;
- 14) здоровые (контрольные) самцы, получавшие в/б инъекции физиологического раствора.

После 7-ми дневного введения исследуемых соединений поведенческие характеристики у крыс были изучены последовательно на моделях: «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Закапывание шариков», «Открытое поле» расширенный. Введение соединений продолжали на протяжении всего эксперимента (Рисунок 2).

А) «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Оценку уровня тревожности проводили в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в модификации для крыс. Подробно методика описана в пункте 2.2.2.

Б) «Закапывание шариков»

Тест «Закапывание шариков» является информативным тестом для оценки стереотипности у крыс и основан на том, что животные используют доступный материал-подстилку, чтобы закопать нежелательные источники дискомфорта, находящиеся в окружении [72].

В стандартную клетку (размерами 40x20x20) плотно укладывали опилки слоем в 3 см, после чего на поверхность в равноудалённом порядке помещали 10 стеклянных шариков (диаметром 1,6 см.). Испытуемую крысу помещали в клетку и оставляли в покое на 30 минут. После 30 минут животное извлекали и проводили подсчёт количества закопанных шариков. Количество шариков отражает выраженность стереотипного поведения животного, т.е. чем больше их закопано по сравнению с контрольными животными, тем сильнее выражена стереотипность [62]. В эксперименте каждую крысу тестировали 3 раза и для анализа использовали среднее значение числа закопанных шариков за три раза для каждого животного. Установку тщательно протирали и обрабатывали между испытаниями.

В) «Открытое поле» расширенный

Для оценки интереса животных к новому несоциальному и социальному объектам был применён тест «Открытое поле» расширенный.

В тесте использовали стандартную установку «Открытое поле» (НПК «Открытая наука», Россия) для крыс, представляющую собой камеру круглой формы с непрозрачными стенами, пол которой расчерчен на сектора и имеет отверстия, имитирующие норки. Тестирование состояло из трех сессий. Первая сессия: животное помещали в установку на 10 мин (сеанс привыкания). После привыкания животное отсаживали из открытого поля. В сессию 2 крысу снова помещали в камеру открытого поля с новым несоциальным объектом в центре поля (пустая металлическая клетка), и в течение следующих 10 мин регистрировали ее поведение, после чего животное удалялось из модели. В 3-ю сессию несоциальный объект в центре был заменен на социальный (незнакомое животное того же пола и возраста в металлической клетке). В течение последних двух сессий регистрировали время (с) нахождения в центральной зоне с объектом.

Для оптимизации работы при регистрации поведенческих изменений была использована система видеотрекинга «EthoVision^{XT}, Noldus» (Нидерланды) с автоматическим способом анализа треков. Исследовательская активность животных в тесте «Открытое поле» оценивалась при визуальном анализе видеофайлов с помощью программы «RealTimer» версии 1.15 (НПК «Открытая наука», Россия).

Статистический анализ результатов поведенческого тестирования проведен в программе GraphPad prism 8.0.1 с предварительной проверкой нормальности распределения и вычислением t-критерия Стьюдента. Данные представлены как среднее значение (M) ± стандартная ошибка среднего (SEM).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Компьютерное прогнозирование возможных фармакологических эффектов новых соединений с использованием компьютерной программы PASS Online

Прогноз фармакологической активности программой PASS был проведен для 48 новых соединений на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора, из которых были отобраны 29. Критерием отбора явились показатели вероятной психотропной и противовоспалительной активности соединений P_a не менее 0,3, как признак наибольшей вероятности исследуемого вида активности в эксперименте.

Результаты прогноза 29 соединений приведены в текущем разделе в виде рисунков 3-5, представляющих собой список видов активности с расчетными оценками вероятности их наличия (P_a) или отсутствия (P_i) от 0 до 1.

Компьютерный прогноз активности для соединений N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот с применением программы PASS показал вероятность анксиолитической активности в диапазоне $P_a=0,385 - 0,952$. Исключением стало соединение с шифром B27, прогнозируемая вероятность активности которого была меньше 0,3.

Как видно на рисунке 3, антидепрессивная активность программой PASS спрогнозирована только для 10-ти соединений данного ряда, однако с высокой вероятностью $P_a=0,436 - 0,863$.

Прогноз программой PASS показал, что 12 соединений ряда N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот способны улучшать когнитивные функции с вероятностью $P_a=0,346-0,834$. Наибольшая активность была спрогнозирована для соединения B1 ($P_a= 0,834$), а наименьшая – для соединения B27 ($P_a= 0,346$).

Противовоспалительная активность прогнозировалась программой PASS для 10 соединений данного ряда в диапазоне $P_a=0,35-0,71$ (рисунок 3).

Общая формула N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот				
Активность Шифр	Анксиолитическая	Антидепрессивная	Улучшение когнитивных функций	Противовоспалительная
B1	Pa 0,604	Pa 0,521	Pa 0,834	Pa 0,653
	Pi 0,002	Pi 0,081	Pi 0,012	Pi 0,014
B2	Pa 0,922	Pa 0,612	Pa 0,683	Pa 0,71
	Pi 0,004	Pi 0,005	Pi 0,008	Pi 0,014
B3	Pa 0,952	Pa 0,641	Pa 0,771	Pa 0,35
	Pi 0,003	Pi 0,045	Pi 0,018	Pi 0,028
B4	Pa 0,385	Pa 0,524	Pa 0,8	-
	Pi 0,062	Pi 0,08	Pi 0,017	
B14	Pa 0,643	Pa 0,577	Pa 0,51	-
	Pi 0,004	Pi 0,003	Pi 0,14	
B 15	Pa 0,504	-	Pa 0,406	Pa 0,503
	Pi 0,172		Pi 0,139	Pi 0,019
B 16	Pa 0,794	-	Pa 0,55	-
	Pi 0,036		Pi 0,101	
B 17	Pa 0,504	-	Pa 0,416	Pa 0,473
	Pi 0,172		Pi 0,199	Pi 0,01
B 27	-	Pa 0,863	Pa 0,346	-
		Pi 0,001	Pi 0,031	
B28	Pa 0,89	-	-	-
	Pi 0,007			
B29	Pa 0,89	-	-	-
	Pi 0,007			
B33	Pa 0,89	Pa 0,534	Pa 0,658	Pa 0,396
	Pi 0,007	Pi 0,004	Pi 0,053	Pi 0,056
B34	Pa 0,89	Pa 0,534	Pa 0,658	Pa 0,396
	Pi 0,007	Pi 0,004	Pi 0,053	Pi 0,056
B35	Pa 0,89	Pa 0,436	-	Pa 0,395
	Pi 0,007	Pi 0,074		Pi 0,256
B342	Pa 0,95	Pa 0,863	-	Pa 0,388
	Pi 0,003	Pi 0,001		Pi 0,013
AH 15	Pa 0,4	-	Pa 0,521	Pa 0,492
	Pi 0,062		Pi 0,078	Pi 0,067

Рисунок 3 – Результаты компьютерного прогноза фармакологической активности солей арилфосфиновых кислот в программе PASS

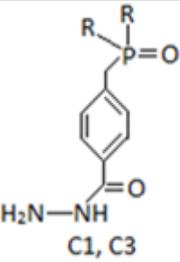
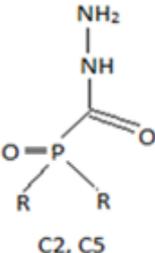
Общие формулы фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот				
 <p>C1, C3</p>		 <p>C2, C5</p>		
Активность	Анксиолитическая	Антидепрессивная	Улучшение когнитивных функций	Противовоспалительная
Шифр				
C1	Pa 0,564 Pi 0,023	Pa 0,330 Pi 0,016	Pa 0,476 Pi 0,15	-
C2	Pa 0,541 Pi 0,062	Pa 0,577 Pi 0,022	Pa 0,534 Pi 0,056	-
C3	Pa 0,443 Pi 0,207	-	Pa 0,428 Pi 0,012	-
C5	Pa 0,647 Pi 0,101	Pa 0,304 Pi 0,015	Pa 0,318 Pi 0,056	Pa 0,468 Pi 0,043
Фосеназид	Pa 0,432 Pi 0,028	-	Pa 0,641 Pi 0,004	-

Рисунок 4 – Результаты компьютерного прогноза фармакологической активности фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот в программе PASS

Согласно результатам компьютерного прогноза, в ряду фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот транквилизирующая активность вероятна для всех соединений в диапазоне Pa = 0,443-0,647. Самые высокие показатели данной активности были получены при изучении соединения C5 (дифенилфосфинилметангидразид), которое по своей химической структуре является фосфорилированным производным муравьиной кислоты (см. рисунок 4).

Антидепрессивная активность, как видно на рисунке 4, с наибольшей вероятностью спрогнозирована программой PASS для соединения C2 (Pa=0,577). Активность выше 0,3 прогнозировалась для трех соединений ряда.

Что касается способности соединений улучшать когнитивные функции, то программой PASS прогнозировался этот вид активности для всех соединений. Однако, вероятность данного вида активности была ниже 0,6. Наибольшая вероятность была отмечены для фосфорилированного производного муравьиной кислоты – соединения C2 (Pa=0,534). Также для соединения C5 вероятно наличие

противовоспалительных свойств, согласно результатам компьютерного прогноза ($P_a = 0,468$).

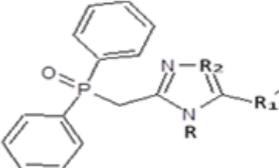
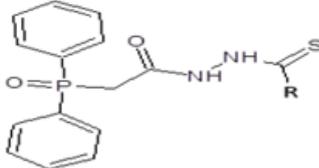
 Т6, Т11, Т13, Т37, Т38, Т39, Т42		Общие формулы производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов		 Т7, Т8
Активность	Анксиолитическая	Антидепрессивная	Улучшение когнитивных функций	Противовоспалительная
	Шифр			
Т6	$P_a 0,534$ $P_i 0,018$	–	–	–
Т7	$P_a 0,432$ $P_i 0,024$	–	$P_a 0,374$ $P_i 0,043$	–
Т8	$P_a 0,532$ $P_i 0,029$	–	$P_a 0,411$ $P_i 0,019$	–
Т11	–	–	$P_a 0,329$ $P_i 0,003$	–
Т13	$P_a 0,647$ $P_i 0,059$	–	$P_a 0,456$ $P_i 0,025$	–
Т37	$P_a 0,62$ $P_i 0,108$	–	–	–
Т38	$P_a 0,648$ $P_i 0,058$	–	$P_a 0,619$ $P_i 0,039$	–
Т39	$P_a 0,74$ $P_i 0,008$	–	$P_a 0,398$ $P_i 0,115$	–
Т42	–	–	$P_a 0,484$ $P_i 0,001$	–

Рисунок 5 – Результаты компьютерного прогноза фармакологической активности производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов в программе PASS

В ряду фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов компьютерной программой PASS для всех исследуемых соединений прогнозировалась анксиолитическая активность $P_a = 0,432-0,74$. Наиболее вероятен данный вид активности у соединения Т39 ($P_a=0,74$). Антидепрессивная активность не прогнозировалась ни для одного соединения данного ряда (см. рисунок 5). Однако, согласно результатам прогноза, для большинства веществ отмечена вероятность влияния на когнитивные функции. Для всех соединений ряда, за исключением Т6 и Т37 эта вероятность

прогнозируется и находится в диапазоне $P_a=0,329 - 0,619$. Противовоспалительная активность для соединений ряда фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов программой PASS не прогнозировалась.

Также в данном разделе представлены результаты компьютерного прогноза фосеназида, являющегося структурным аналогом трех рядов исследуемых соединений (см. рисунок 4). Согласно полученным результатам, для фосеназида прогнозируется анксиолитическая ($P_a=0,432$) и мнемотропная активность ($P_a=0,641$).

3.2 Показатели «острой» токсичности новых соединений на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора

В исследованиях использовано 900 нелинейных мышей-самцов массой 18-24 г и 180 крыс-самцов массой 200-250г. Токсичность исследуемых соединений определяли при в/б введении свежеприготовленных растворов. Полученные показатели «острой» токсичности изученных соединений по рядам представлены в таблицах 4-7. Вещества, у которых смертельные дозы не определялись, инъецировались в максимально возможных для введения концентрациях и объемах.

Как показано в таблицах 4-7, все исследуемые соединения по классификации Сидорова [66] относятся к классам малотоксичных, практически нетоксичных или относительно безвредных веществ. Установлено, что при в/б введении соединений ряда N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот наиболее токсичным оказалось соединение В4 ($LD_{50}=1220$ мг/кг) (таблица 4). В ряду фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот для соединения С2 летальная доза не была определена даже при введении 10000 мг/кг. Наибольшая токсичность в ряду была отмечена для соединения с шифром С5 и составила 1500 мг/кг (таблица 5). В ряду производных тиосемикарбазидов было выявлено наиболее токсичное соединение Т6 ($LD_{50} = 315$ мг/кг) среди показателей всех исследуемых рядов (таблица 6). В таблице 7 представлены показатели

«острой» токсичности 6-ти соединений, при в/б введении их крысам линии Wistar. Стоит отметить, что показатели «острой» токсичности при введении соединений крысам отличались от показателей при введении мышам незначительно.

Таблица 4 – Показатели «острой» токсичности N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот при внутрибрюшинном введении белым мышам

Шифр соединения	ЛД₅₀ (мг/кг)
B1	1550±210
B2	2100±320
B3	3050±295
B4	1220±160
B14	3400±270
B15	>5000*
B16	2800±260
B17	>5000*
B27	3060±220
B28	3060±220
B29	3060±220
B33	3750±315
B34	1500±180
B35	3750±320
B342	>5000*
АН15	>5000*

Примечание: *- ЛД не определялась при введении дозы 5000 мг/кг

Таблица 5 – Показатели «острой» токсичности фосфорилированных производных муравьиной и уксусной кислот при внутрибрюшинном введении белым мышам

Шифр соединения	ЛД₅₀ (мг/кг)
C1	2100±150
C2	>10000*
C3	>5000*
C5	1500±150

Примечание: * - ЛД не определялась при введении максимально вводимой дозы

Таблица 6 – Показатели «острой» токсичности фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов при внутрибрюшинном введении белым мышам

Шифр соединения	ЛД ₅₀ (мг/кг)
T6	315 _± 20
T7	810 _± 30
T8	615 _± 24
T11	>5000*
T13	>5000*
T37	>5000*
T38	500 _± 26
T39	>5000*
T42	3500 _± 270

Примечание: *- ЛД не определялась при введении 5000 мг/кг

Таблица 7 – Показатели «острой» токсичности представителей трех новых рядов фосфорсодержащих соединений при внутрибрюшинном введении крысам линии Wistar

Шифр соединения	ЛД ₅₀ (мг/кг)
B2	2060 _± 290
B3	2960 _± 270
АН15	>5000*
C1	2070 _± 130
C5	1500 _± 150
T8	560 _± 20

Примечание: *- ЛД не определялась при введении дозы 5000 мг/кг

3. 3. Исследование влияния соединений на ЦНС

3.3.1. Влияние исследуемых соединений на поведение мышей в тесте «Открытое поле»

Изучение поведенческой активности было проведено на модели «Открытое поле» (ОП) на 560 мышах-самцах, массой 18-24 г. Результаты представлены на рисунках 6 и 7, а также в приложениях 1-3.

На рисунках 6 и 7 представлены данные соединений всех трех рядов, у которых в ОП были отмечены статистически значимые отличия по исследуемому

показателю относительно животных контрольной группы. Наибольшее увеличение двигательной активности установлено в группе фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов. Введение соединения Т37 в обеих дозах приводило увеличению количества пересеченных линий: в 1,9 раз ($p < 0,05$) при введении дозы 1/100 от ЛД₅₀, а также в 1,7 раз ($p < 0,05$) при введении дозы 1/50 от ЛД₅₀, по сравнению с мышами контрольной группы. Кроме того, было отмечено увеличение исследуемого показателя при введении веществ с шифрами Т8, Т13 и Т39 данного ряда. Лидерами в ряду N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот по увеличению двигательной активности стали вещества В14 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ и В16 в обеих дозах. Число пересеченных мышами линий при их введении возрастало в 1,6 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными. В ряду фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот только соединение С5 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ вызывало увеличение двигательной активности при введении его мышам в 1,3 ($p < 0,05$) раза.

Наибольшее снижение двигательной активности зафиксировано при введении соединения С2 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 3,9 раз ($p < 0,05$) из ряда фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот. Кроме того, отмечено вещество Т42 из ряда фосфорилированных производных тиосемикарбазидов, которое в 2,2 раза для 1/100 от ЛД₅₀ ($p < 0,05$) и в 3,3 раза для 1/50 от ЛД₅₀ ($p < 0,05$) снижало количество пересеченных мышами линий по сравнению с контрольными животными. В ряду N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот соединения В4 в 2 раза ($p < 0,05$) и В15 в 1,5 раза ($p < 0,05$), в дозе 1/50 от ЛД₅₀ и В33 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ в 1,2 раза ($p < 0,05$) вызывали снижение двигательной активности при введении их животным (рисунок 6).

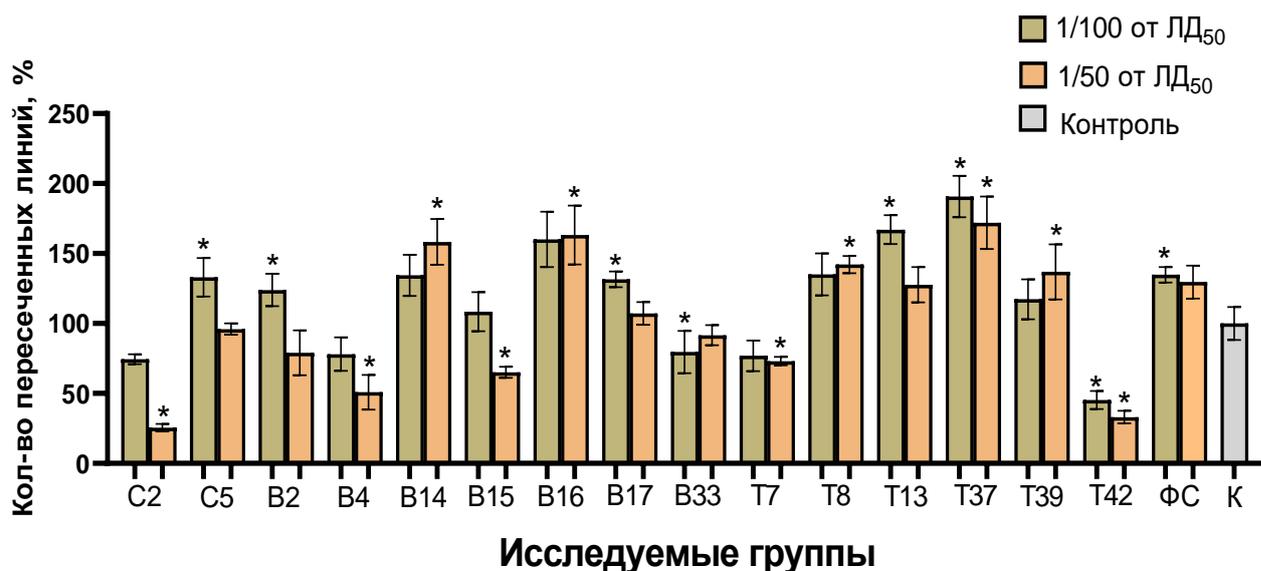


Рисунок 6 – Влияние соединений на двигательную активность мышей в тесте «Открытое поле», где ФС- показатели группы животных, получавших фосеназид (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – количество пересеченных линий, %)

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

Анализ исследовательской активности показал, что наибольшее увеличение числа обследованных отверстий наблюдалось при введении представителя ряда фосфорилированных производных тиосемикарбазидов – соединения Т37 в обеих дозах: в дозе 1/100 от ЛД₅₀ в 1,6 раза ($p < 0,05$) и в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 2,1 раза ($p < 0,05$). По своей химической структуре соединение Т37 является основанием Манниха, полученное из 1,2,4-триазол-3-тиона. Аналогичный рост исследовательской активности был зафиксирован при введении соединения группы N-замещенных аммонийных солей (2-этоксид-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот В1 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ в 2,1 раза ($p < 0,05$). Самое значимое снижение исследовательской активности установлено для соединения Т42 в дозе 1/50 от ЛД₅₀, т.е. снижение количества исследуемых отверстий в 3,3 ($p < 0,05$ раза) по сравнению с группой контроля (рисунок 7, приложения 1-3).

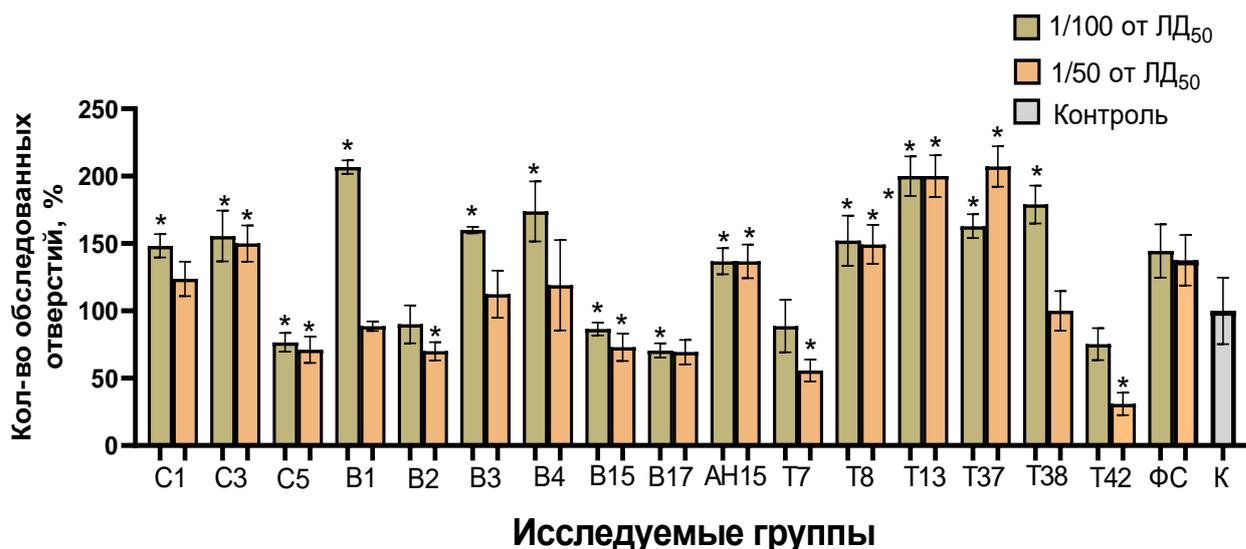


Рисунок 7 – Влияние исследуемых соединений на исследовательскую активность мышей в тесте «Открытое поле», где ФС – показатели группы животных, получавших фосеназид (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – количество обследованных отверстий, %)

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

3.2.2. Исследование анксиолитической активности

Эксперименты проведены на 720 белых беспородных мышках-самцах, массой 18-24 г. В качестве препарата сравнения в экспериментах использовали феназепам в дозе 1 мг/кг, в качестве структурного аналога - фосеназид в дозах, соответствующих дозам исследуемых веществ. Для оценки транквилизирующих свойств соединений использовали поведенческие методы: «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Тёмно-светлая камера» и «Конфликтная ситуация с водной депривацией». Результаты экспериментов по оценке транквилизирующей активности представлены последовательно по каждому ряду изученных соединений на рисунках 8 – 14 и в приложениях 4-8.

N-замещенные аммонийные соли (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот

В ряду *N*-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот, введение соединений В2, В4, В14 и В16 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ привело к увеличению времени нахождения животных в открытых рукавах «Приподнятого крестообразного лабиринта», в 1,5 ($p < 0,05$), 1,5 ($p < 0,05$), 1,7 (p

<0,05) и 2,3 ($p < 0,05$) раза соответственно, что может говорить о наличии у этих веществ некоторых анксиолитических свойств. Введение АН15 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ увеличивало время, проведенное мышами в открытых рукавах в 3,1 ($p < 0,05$) раза. При применении В15 отмечалось увеличение продолжительности пребывания в ОР в 2,2 ($p < 0,05$) и 2,0 ($p < 0,05$) раза, а также В17 в 2,4 ($p < 0,05$) и 2,0 ($p < 0,05$) раза, В342 в 2,5 ($p < 0,05$) и ($p < 0,05$) 2,8 раза, соответственно для 1/100 от ЛД₅₀ и 1/50 от ЛД₅₀. Как видно на рисунке 8, наибольшее увеличение исследуемого показателя наблюдали при введении соединения АН15 в 3,1 раза ($p < 0,05$) и В342 в 2,8 раз ($p < 0,05$) в дозе 1/50 от ЛД₅₀ (рисунок 8, приложение 4).

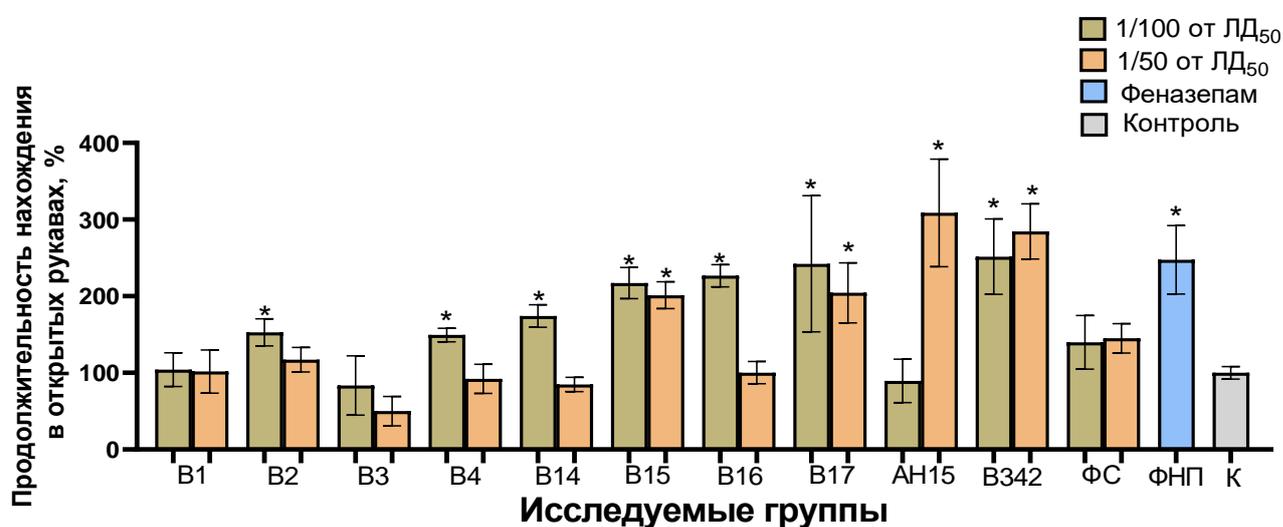


Рисунок 8 – Влияние N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», где: ФС – показатели группы животных, получавших фосеназид; ФНП – показатели группы животных, получавших феназепам (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность нахождения в открытых рукавах лабиринта, %)

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

При проведении тестирования на модели «Темно-светлая камера» установлено увеличение времени пребывания мышей в светлой камере при введении В15 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ в 2,9 раз ($p < 0,05$) и в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 2,5 раза ($p < 0,05$) (рисунок 9, приложение 5) по сравнению с мышами контрольной группы. При исследовании других соединений данного ряда в «Темно-светлой камере» статистически значимых изменений в поведении мышей не было обнаружено.

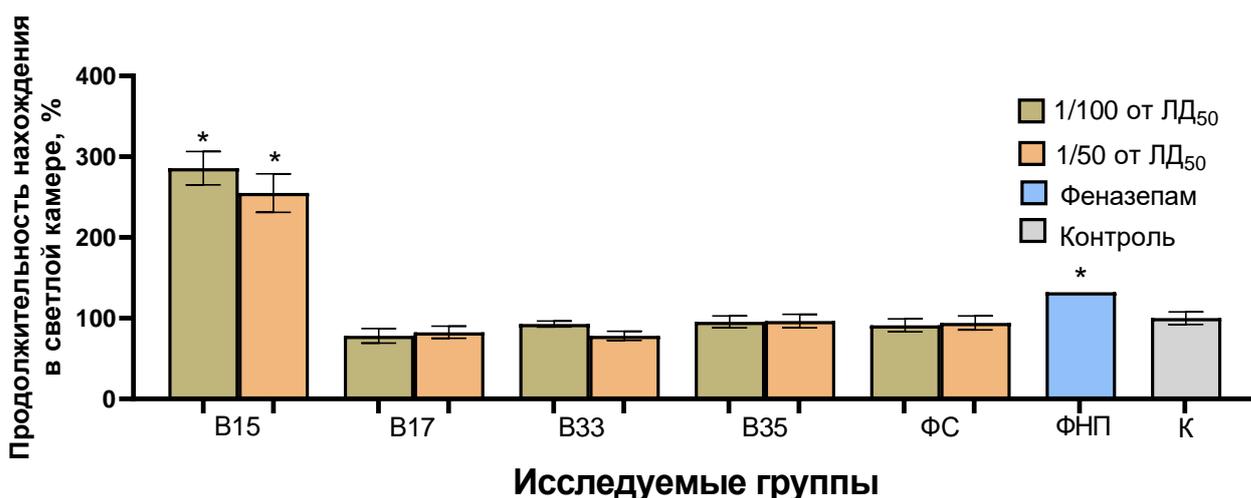


Рисунок 9 – Влияние N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Темно-светлая камера» (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность нахождения мышей в светлой камере, %)

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

Фосфорилированные производные уксусной и муравьиной кислот

При исследовании фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на моделях, направленных на выявление у веществ противотревожной активности, были отмечены изменения в поведении животных при введении всех соединений данного ряда. Так, в эксперименте с использованием установки «Приподнятый крестообразный лабиринт» при введении соединения С2 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ и С5 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ наблюдалось увеличение времени пребывания мышей в открытых рукавах лабиринта в 1,6 раз ($p < 0,05$) и в 1,7 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными (рисунок 10, приложение 6).

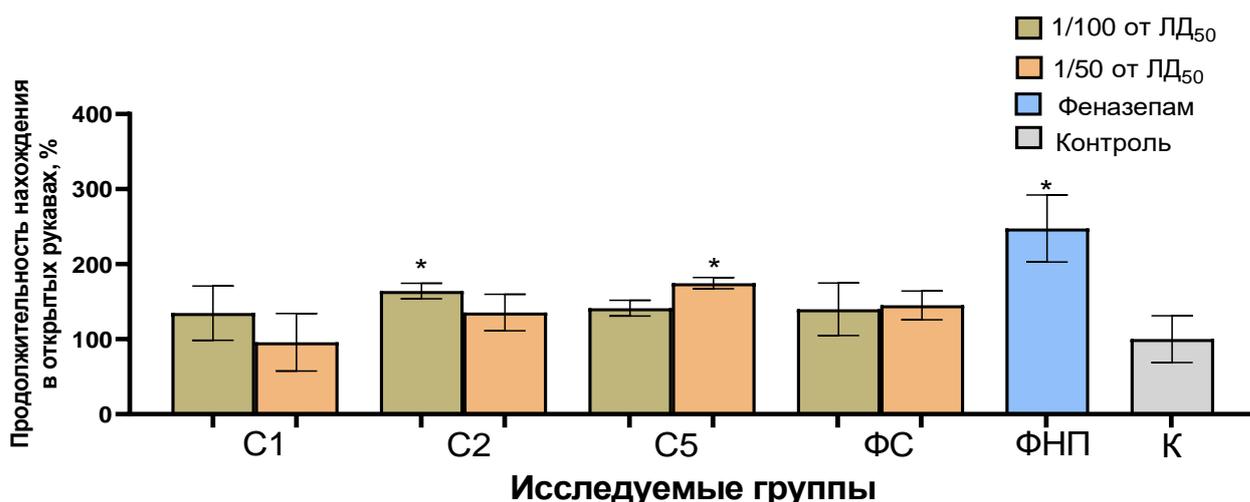


Рисунок 10 – Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность нахождения в открытых рукавах, %)

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

При проведении теста «Темно - светлая камера» анксиолитические свойства выявлены у соединений С1 (1/100 от ЛД₅₀), С3 (1/50 от ЛД₅₀) и С5 (1/100 от ЛД₅₀), т.е. отмечалось увеличение времени пребывания мышей в светлой камере в 1,2 раза ($p < 0,05$), в 1,2 раза ($p < 0,05$), в 1,3 раза ($p < 0,05$) соответственно, по сравнению с контрольными животными (рисунок 11, приложение 5).

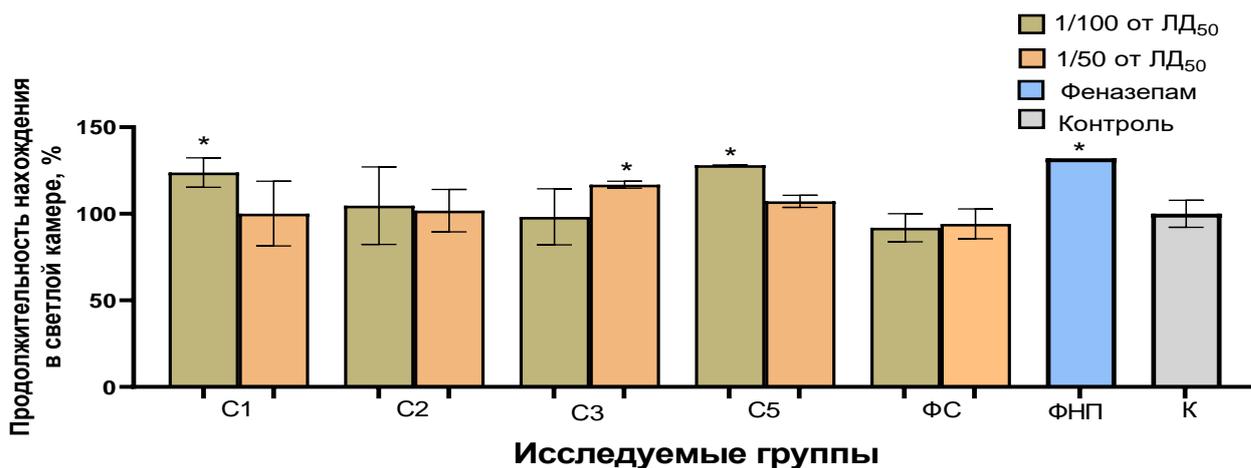


Рисунок 11 – Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Темно-светлая камера» (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность нахождения в светлой камере, %)

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

Результаты эксперимента на модели «Конфликтная ситуация с водной депривацией» показали увеличение числа взятий воды в 1,7 раз ($p < 0,05$) и в 2,8 раз ($p < 0,05$) мышами, которым были введены соединения С2 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ и С5 в дозе 1/100 от ЛД₅₀, что также демонстрирует вероятность наличия анксиолитических свойств у данных веществ, обнаруженных и в других опытах (рисунок 12, приложение 7).

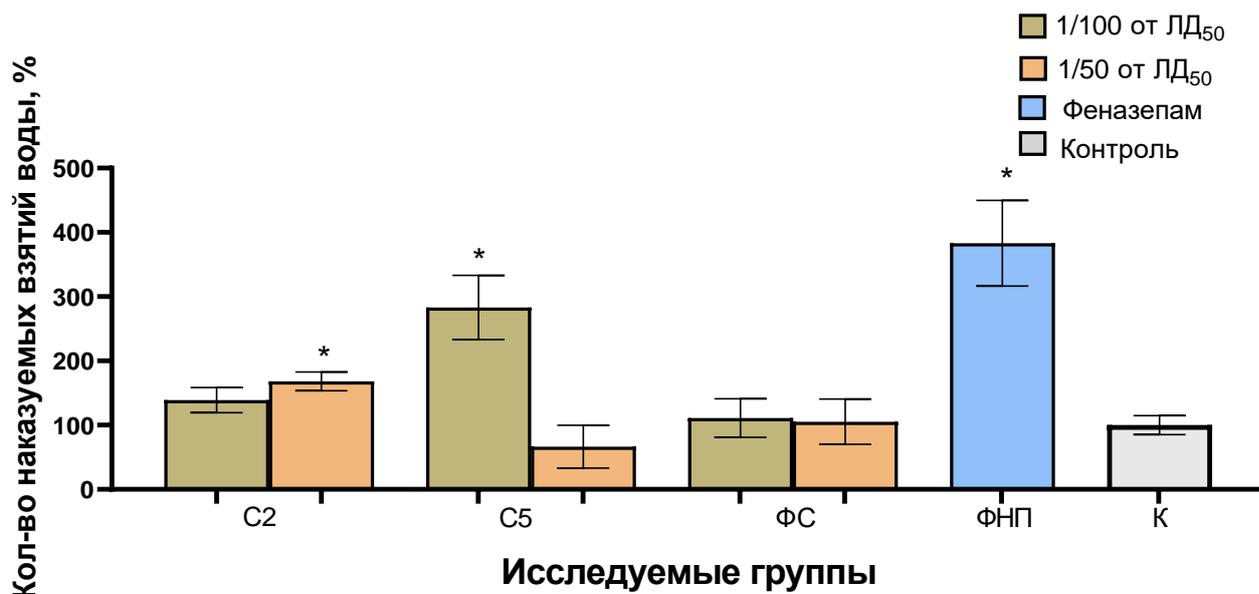


Рисунок 12 – Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Конфликтная ситуация с водной депривацией» (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – количество наказуемых взятий воды, %)

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

Фосфорилированные производные тиосемикарбазидов и их циклических аналогов

В ряду фосфорилированных производных тиосемикарбазидов при проведении теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» наблюдалось увеличение общей продолжительности нахождения мышей в открытых рукавах лабиринта при введении исследуемых соединений: Т8 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 3,5 раза ($p < 0,05$), Т37 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ и в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 1,4 раза ($p < 0,05$), Т39 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 2,3 раза ($p < 0,05$) по отношению к показателям контрольной группы (рисунок 13, приложение 8).

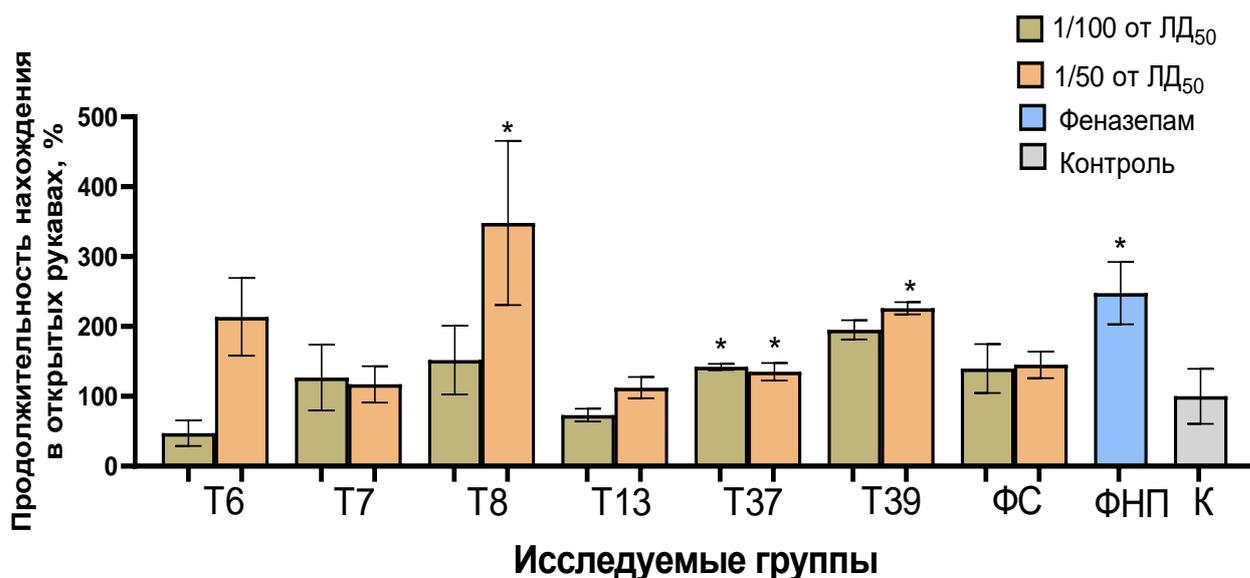


Рисунок 13 – Влияние производных тиосемикарбазидов на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», где ФС- показатели группы животных, получавших фосеназид; ФНП - показатели группы животных, получавших феназепам (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность нахождения в открытых рукавах, %)

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

В экспериментах с использованием установки «Темно-светлая камера» были обнаружены изменения в поведении мышей только при введении соединения Т8 в дозе 1/100 от ЛД₅₀, что выражалось в увеличении длительности пребывания мышей в светлой камере модели в 1,3 раза ($p < 0,05$) (рисунок 14, приложение 5) по сравнению с контрольными животными.

При проведении экспериментов по поиску анксиолитической активности представителей всех трех рядов новых фосфорсодержащих соединений не было обнаружено статистически значимых изменений в поведении животных при введении им активного структурного аналога - фосеназида, в дозах, соответствующих дозам исследуемых соединений: 1/100 и 1/50 от ЛД₅₀. Препарат сравнения – феназепам показал анксиолитическую активность при проведении всех экспериментов настоящего раздела.

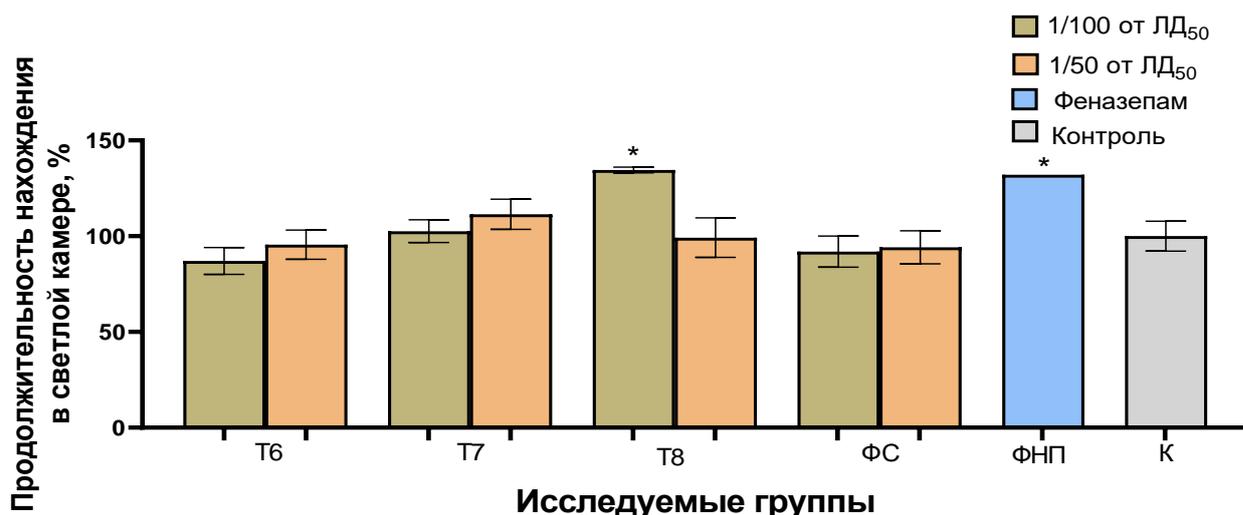


Рисунок 14 – Влияние производных тиосемикарбазидов на поведение мышей в тесте «Темно-светлая камера» где ФС- показатели группы животных, получавших фосеназид; ФНП - показатели группы животных, получавших феназепам (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность нахождения мышей в светлой камере, %)

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

3.3.3. Исследование антидепрессивной активности соединений на модели «Поведенческое отчаяние»

Эксперименты проведены на 368 белых беспородных мышах-самцах, массой 18-22 г. Препаратом сравнения выступил имипрамин (мелипрамин, 7 мг/кг), а в качестве структурных аналогов – КАПАХ (10 мг/кг), а также фосеназид в дозах 1/100 и 1/50 от ЛД₅₀. Результаты экспериментов по изучению антидепрессивных свойств представлены на рисунках 15-17 и в приложениях 9-11.

N-замещенные аммонийные соли (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот

В тесте «Поведенческое отчаяние» при введении мышам соединений В3, В14, В27, В35 и В342 отмечалось наличие антидепрессивного эффекта, т.е. уменьшение времени «замирания» мышей: в случае В3 в 1,4 раза ($p < 0,05$) 1/100 от ЛД₅₀ и в 1,7 раз ($p < 0,05$) 1/50 от ЛД₅₀, а в случае В14 и В342 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ - в 2,5 раза ($p < 0,05$) и в 1,9 раз ($p < 0,05$), а также В27 и В35 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 2,5 раза ($p < 0,05$) и 1,7 раз ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольными животными. Наиболее выраженное снижение исследуемого показателя отмечено для

соединений В14 (1/100 от ЛД₅₀) и В27 (1/50 от ЛД₅₀), т.е. уменьшение длительности периодов «замирания» животных в 2,5 раза ($p < 0,05$) (рисунок 15, приложение 9).

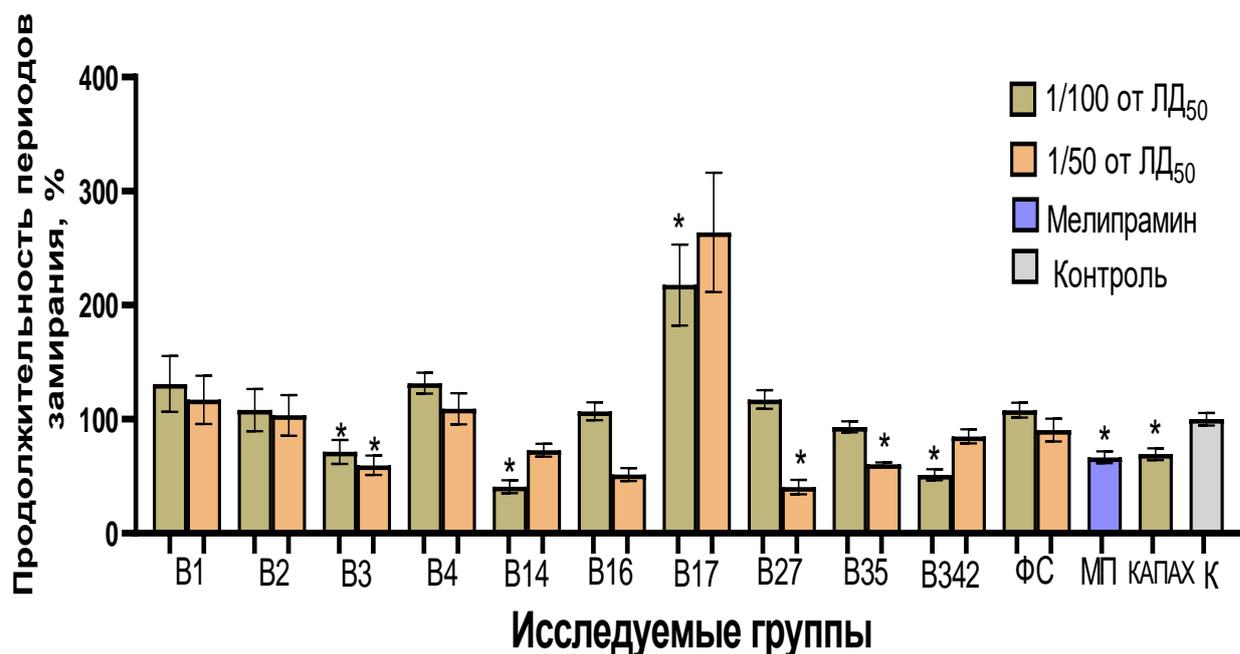


Рисунок 15 – Влияние N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние», где ФС-показатели группы животных, получавших фосеназид; МП - показатели группы животных, получавших мелипрамин (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность периодов «замирания», %)

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

Фосфорилированные производные уксусной и муравьиной кислот

Тестирование показало, что при введении соединений данного ряда статистически значимых отличий с группой контроля не обнаружено (рисунок 16, приложение 10).

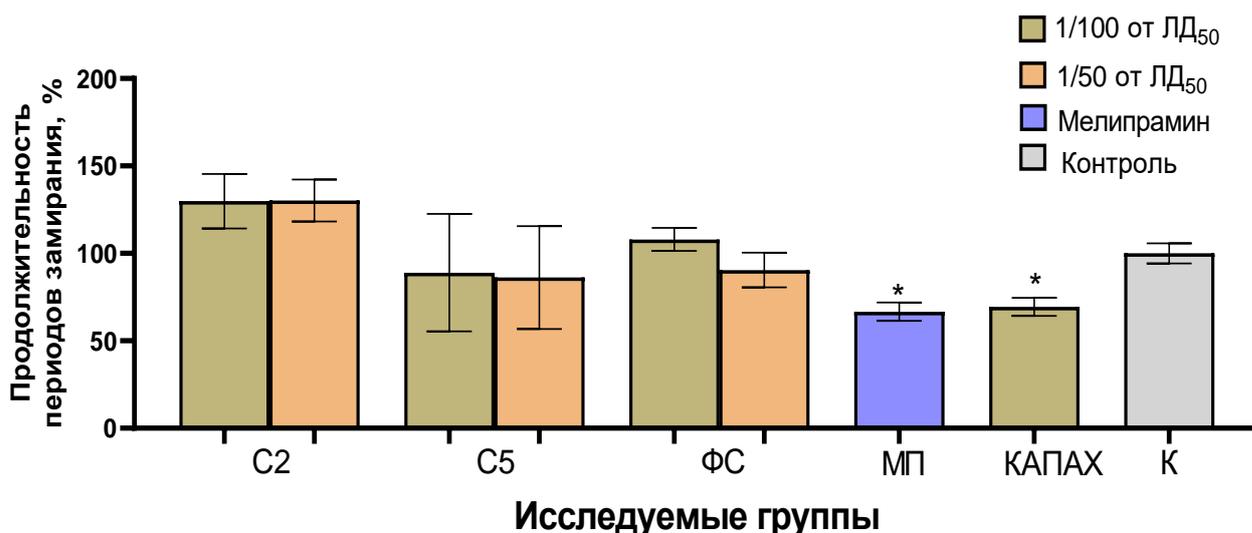


Рисунок 16 – Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние» где ФС - показатели группы животных, получавших фосеназид; МП - показатели группы животных, получавших мелипрамин (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность периодов замирания, %)

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

Фосфорилированные производные тиосемикарбазидов и их циклических аналогов

Результаты экспериментов на модели «Поведенческое отчаяние» для соединений ряда фосфорилированных производных тиосемикарбазидов представлены на рисунке 17 и в приложении 11.

Снижение продолжительности периодов замирания было отмечено для соединения Т8 в дозе 1/50 от ЛД₅₀ в 2,3 раза ($p < 0,05$), для соединения Т13 в дозе 1/100 от ЛД₅₀ в 1,7 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными мышами.

Во всех проведенных экспериментах по скринингу антидепрессивной активности препарат сравнения мелипрамин снижал длительность периодов неподвижности в 1,5 раза ($p < 0,05$), а структурный аналог КАПАХ – в 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с животными контрольной группы.

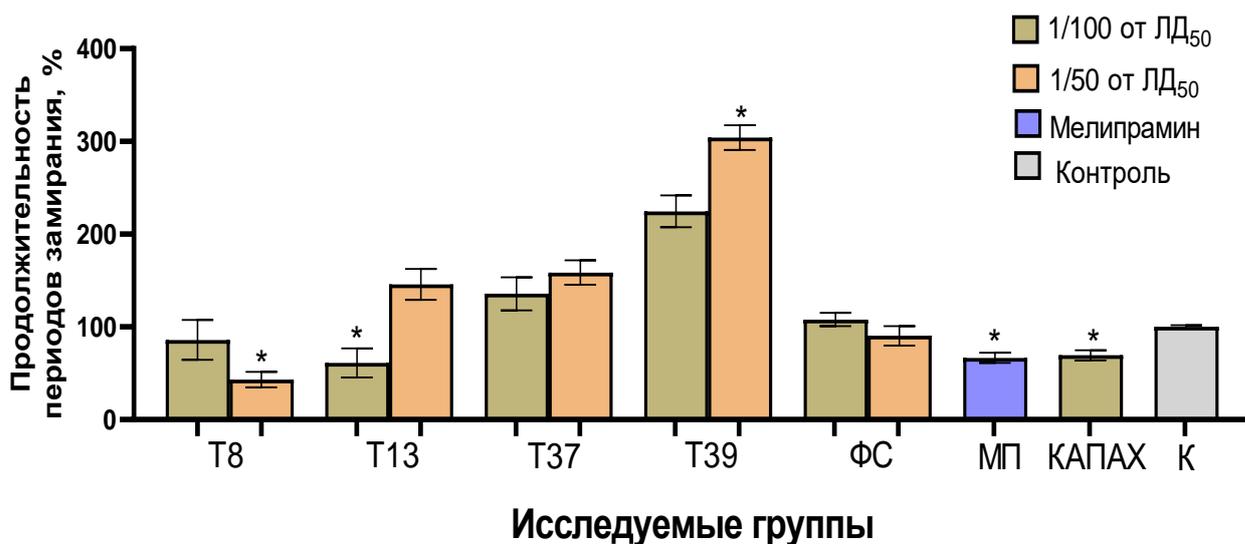


Рисунок 17 – Влияние производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние» где ФС-показатели группы животных, получавших фосеназид; МП - показатели группы животных, получавших мелипрамин (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – продолжительность периодов замирания, %)

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

3.3.4 Исследование способности соединений улучшать память и когнитивные функции на моделях «Т-образный лабиринт» и «Водный лабиринт Морриса»

Эксперименты по изучению возможности соединений улучшать процессы обучаемости и памяти грызунов были проведены на 160 белых беспородных мышах-самцах массой 18-24 г и 100 крысах массой 200-250 г. В качестве препаратов сравнения использовали пирацетам 100 мг/кг, мемантин 10 мг/кг и ближайший структурный аналог 2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенилфосфорилацетогидразид (КАПАХ) - 10 мг/кг. Результаты изучения активности соединений, отобранных по данным компьютерного прогноза и скрининга в «Открытом поле», в эксперименте представлены на рисунках 18 и 19, в приложениях 12-14.

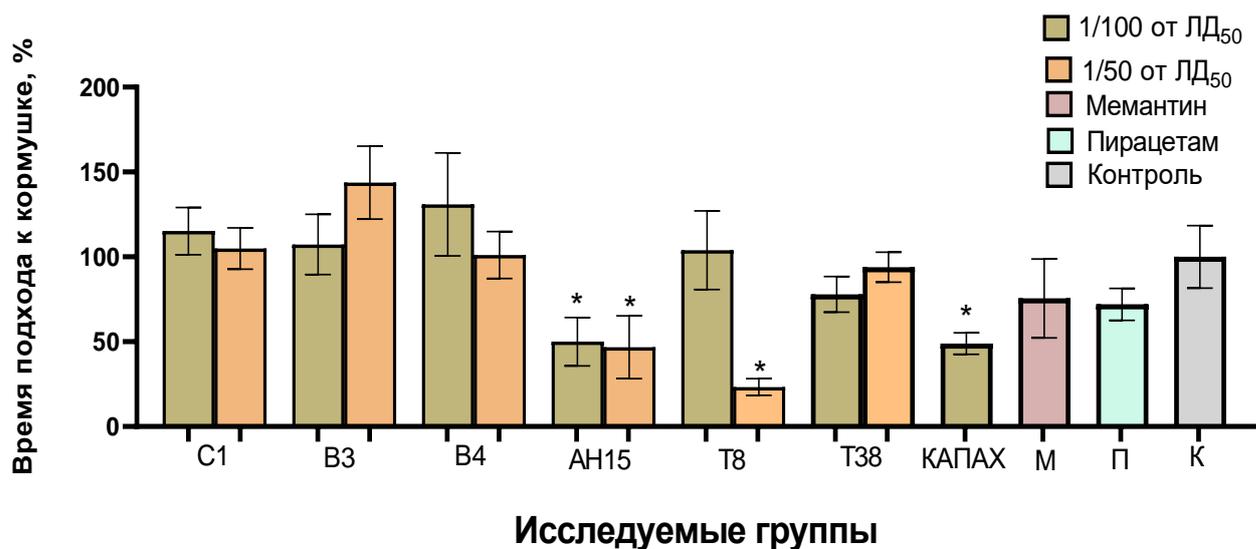


Рисунок 18 - Влияние исследуемых соединений на показатели обучаемости и памяти мышей в тесте «Т-образный лабиринт», где П – показатели группы животных, которым вводили пирацетам; М – показатели группы животных, которым вводили мемантин (по оси абсцисс – исследуемые группы, по оси ординат – время подхода к кормушке, %).

Примечание: * – статистически значимые отличия по отношению к показателям контрольной группы (К), принятым за 100%

В тесте «Т-образный лабиринт» (см. рисунок 18) введение вещества AN15 мышам в обеих дозах (100 мг/кг и 50 мг/кг) приводило к уменьшению времени поиска кормушки в 2,1 и 2 раза соответственно ($p < 0,05$). Соединение T8 было также эффективно, но только в одной дозе - 12 мг/кг (1/50 от ЛД₅₀), время поиска пищи уменьшалось в 4,3 раза ($p < 0,05$). Показатель уменьшения латентного периода поиска пищи является одним из критериев, свидетельствующих об улучшении исследуемыми веществами процессов обучения у мышей. В остальных группах значимых отличий не обнаружено.

В тесте «Водный лабиринт Морриса» исследованы соединения AN15 и T8, как проявившие активность на предыдущей модели, а также B3, показавшее высокую прогностическую вероятность в случае анализа PASS. Установлено увеличение времени пребывания крыс в зоне расположения платформы: после введения соединений T8 в дозе 6 мг/кг в 1,8 раза ($p < 0,05$), B3 в дозе 60 мг/кг - в 1,6 раза ($p < 0,05$) (рисунок 19 А). Следует отметить, что полученные результаты были

сопоставимы с таковыми у структурного аналога КАПАХ. В остальных случаях значимых отличий не выявлено.

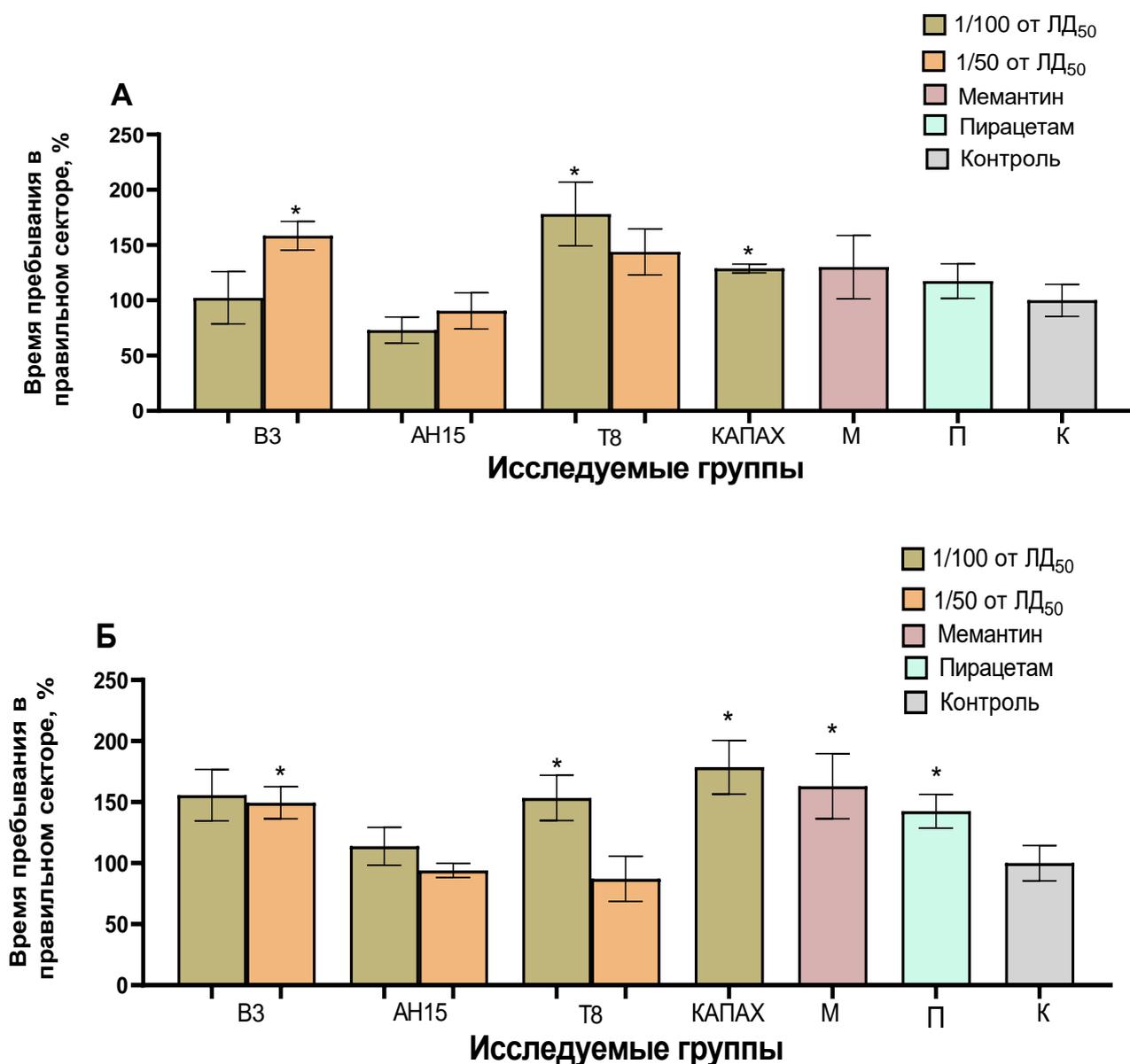


Рисунок 19 – Влияние производных N-замещённых аммонийных солей арилфосфиновых кислот и фосфорилированных производных тиосемикарбазидов при 4-х дневном (А) и 14-ти дневном (Б) введении на показатели обучаемости и памяти крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса», где П – показатели группы животных, которым вводили пирацетам; М – показатели группы животных, которым вводили мемантин

Примечание: * – статистически значимые отличия по отношению к показателям контрольной группы (К), принятым за 100%

Результаты тестирования крыс после 14-ти дневного введения соединений представлены на рисунке 19 Б. Статистически значимое увеличение времени

пребывания крыс в зоне бассейна, где в дни обучения находилась платформа, установлено при введении соединений Т8 в дозе 6 мг/кг и В3 в дозе 60 мг/кг ($p < 0,05$) в 1,5 раза. На данном сроке наблюдения проявили активность и препараты сравнения пиррацетам и мемантин, увеличивая продолжительность пребывания в правильном секторе в 1,4 раза ($p < 0,05$) и 1,6 раз ($p < 0,05$) соответственно, относительно контрольных животных. При оценке дополнительных показателей - скорости движения и пройденного пути - не были выявлены статистически значимые изменения в исследуемых группах.

3.4. Исследование противовоспалительной активности соединений

Эксперименты проведены на 128 белых беспородных мышах – самцах массой 18-24 г. Для валидации методики использовали классическое противовоспалительное средство с доказанной эффективностью - диклофенак натрия в дозе 8 мг/кг. На рисунке 20 представлены показатели через три часа после введения каррагенина, поскольку в этой временной точке стали выявляться первые статистически значимые отличия, по сравнению с контрольной группой. Уменьшение прироста объема лапы наблюдалось при введении соединений В3, В15, В17 и С5, что может свидетельствовать о наличии у них противовоспалительных свойств.

Наиболее выраженное снижение прироста объема лап мышей через 3 часа наблюдалось при введении соединения В15 в 1,8 раз ($p < 0,05$) и С5 в 1,9 раз ($p < 0,05$) в дозе 1/100 от ЛД₅₀ (рисунок 20). Кроме того, эффект от введения этих соединений сохранялся при измерениях во всех последующих временных точках: 4,6 и 24 часа. Также снижение прироста объема лап мышей было выявлено при введении препарата с доказанной антидепрессивной активностью – мелипрамина в 2,4 раза ($p < 0,05$) и препараты сравнения диклофенака в 4,8 раз ($p < 0,05$) (приложение 15).

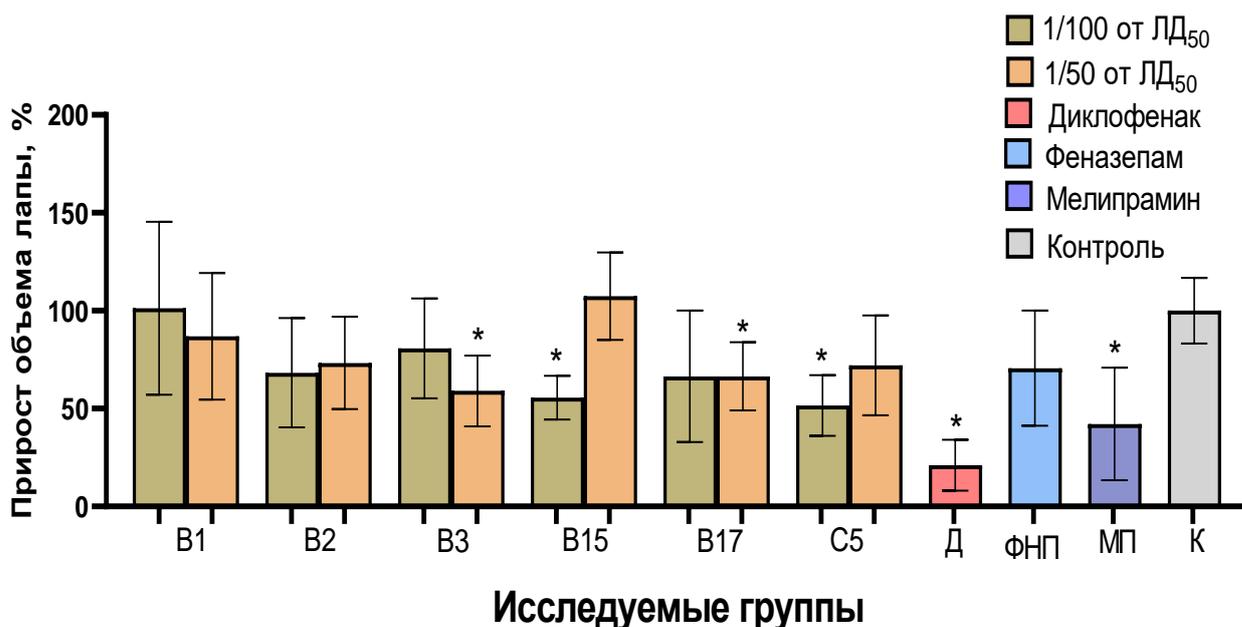


Рисунок 20 – Влияние однократного введения соединений В1, В2, В3, В15, В17, С5, диклофенака (Д), феназепама (ФНП) и мелипрамина (МП) на выраженность каррагенинового субплантарного отека у мышей через 3 часа после введения каррагенина (по оси абсцисс – группы животных, по оси ординат – прирост объема лапы, %)

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

Известно, что некоторые противовоспалительные свойства характерны для психотропных препаратов, но для анксиолитиков это противовоспалительное действие снижается или исчезает при длительном ведении [73]. Учитывая эти данные, был проведен эксперимент, при котором два соединения С5 и В15, показавшие наибольшую активность в остром эксперименте, вводили в течение 14 дней, после чего также было проведено тестирование на модели каррагенинового отека. Было отмечено, что после двухнедельного введения противовоспалительная активность соединения В15 и С5 прослеживалась уже через час после начала эксперимента и практически во всех временных точках (рисунок 21).

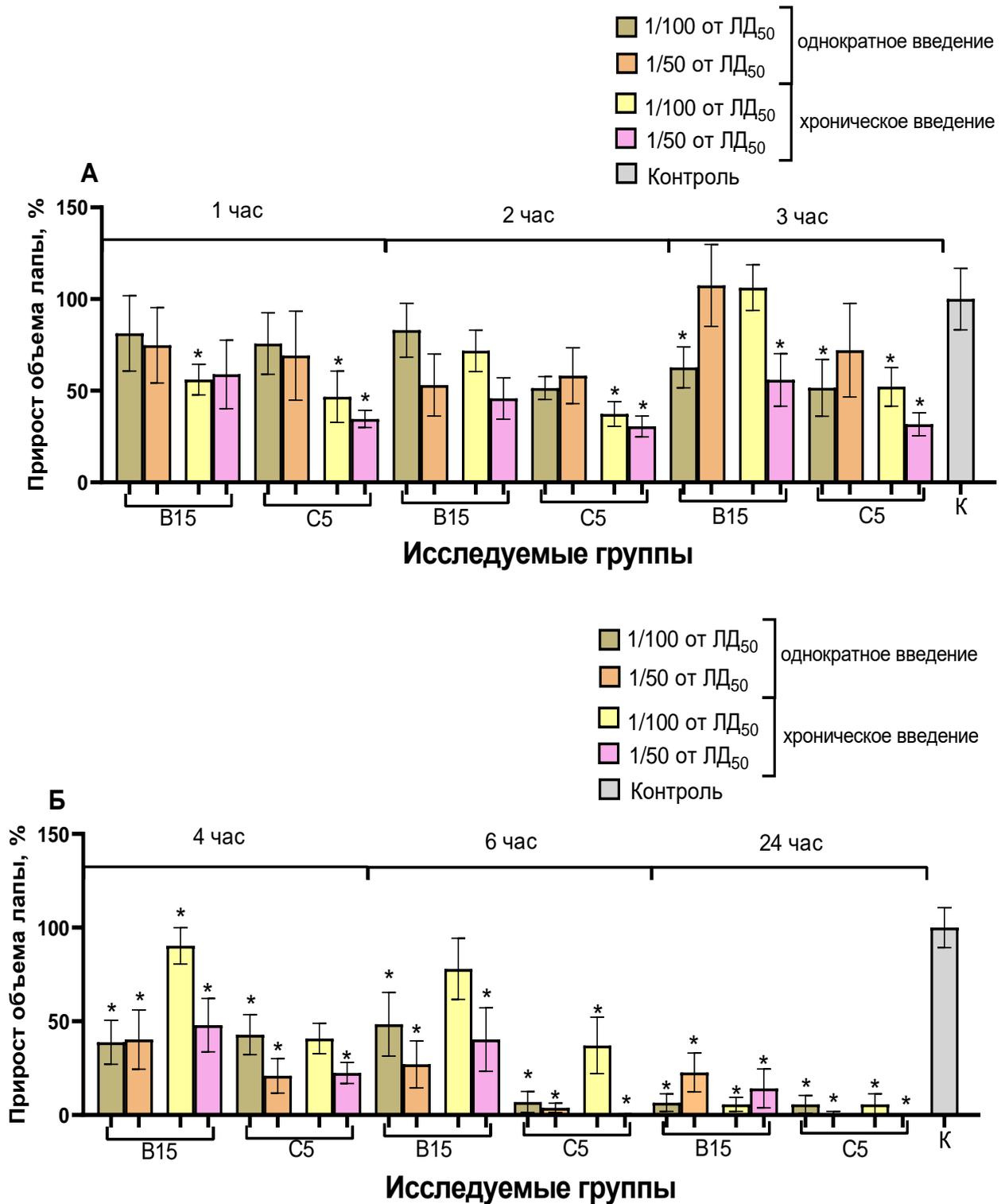


Рисунок 21 – Влияние однократного и многократного введения соединений В15 и С5 на выраженность каррагенинового субплантарного отека у мышей, где А – показатели через 1, 2, 3 часа; Б – показатели через 4, 6 и 24 часа после введения каррагенина (по оси абсцисс – группы животных, по оси ординат – прирост объема лапы, %)

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

3.5 Изучение влияния соединений на нарушенное поведение крыс в вальпроатной модели аутизма

Эксперименты по изучению способности соединений влиять на нарушенное поведение крыс в ВМА были проведены на 98 крысах (49 самцах и 49 самках, потомство 15 крыс-самок после пренатального подкожного введения вальпроевой кислоты (500 мг/кг) или физиологического раствора на 12 день гестации) в возрасте 90 дней, массой 250-300 г. Для исследования были отобраны соединения, представители трех рядов, показавшие активность в вышеописанных экспериментах по поиску психотропных свойств.

В качестве препаратов сравнения использовали антидепрессант amitriptyline 4 мг/кг и нейролептик risperidone 1 мг/кг. Результаты изучения активности соединений представлены на рисунках 22-24 и в приложениях 16-18.

«Приподнятый крестообразный лабиринт»

Результаты поведенческого тестирования животных на модели «ПКЛ» представлены на рисунке 22.

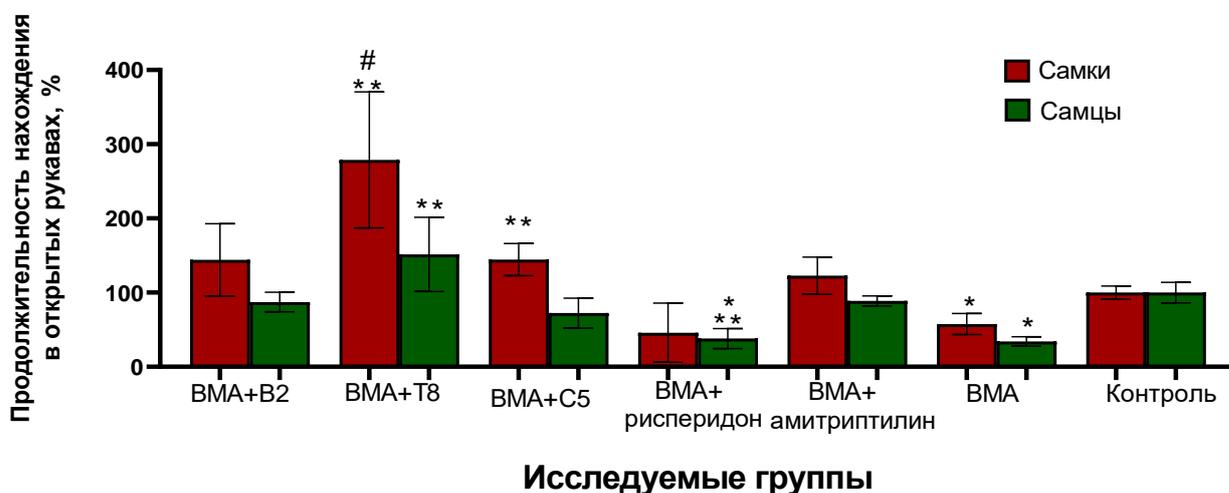


Рисунок 22 – Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (по оси абсцисс – группы животных, по оси ординат – продолжительность нахождения в открытых рукавах, %)

Примечание: * - статистически значимые отличия по отношению к животным контрольной группы, $p < 0,05$; ** - статистически значимые различия по отношению к животным без лечения (ВМА) при $p < 0,05$; # – тенденция $0,05 < p < 0,1$ по отношению к контрольной группе

Установлено, что и самки, и самцы в ВМА без «лечения» демонстрировали уменьшение времени нахождения в ОР лабиринта по сравнению с контрольными животными в 1,7 ($p < 0,05$) и 2,9 ($p < 0,05$) раза соответственно. После 7-дневного применения Т8 животные проводили большее времени в ОР по сравнению с животными без «лечения»: самки в 4,8 ($p < 0,05$), а самцы в 4,4 ($p < 0,05$) раза.

Кроме того, наблюдалась тенденция к увеличению времени нахождения крыс в ОР в группе самок в ВМА, после введения Т8, по сравнению с контрольными самками ($0,05 < p < 0,1$) (см. рисунок 22). Введение соединения С5 самкам в ВМА способствовало увеличению времени пребывания в ОР в 2,5 раза ($p = 0,038$) по сравнению с самками «без лечения».

При введении рисперидона самцам крыс в ВМА установлено снижение времени нахождения в ОР в 7,4 ($p < 0,05$) раза по сравнению со здоровыми самцами, или же в 2,5 ($p < 0,05$) раза по сравнению с животными в модели аутизма «без лечения». В остальных случаях статистически значимых отличий не выявлено.

«Закапывание шариков»

Результаты поведения животных в тесте «Закапывание шариков» представлены на рисунке 23.

Анализ результатов показал увеличение числа закопанных шариков в подгруппах самок и самцов в ВМА без «лечения» по сравнению с контрольными животными в 1,9 ($p < 0,05$) и 1,7 ($p < 0,05$) раза соответственно, что свидетельствует о повышении уровня стереотипности в поведении крыс в ВМА.

Введение исследуемых соединений в режиме «лечения» самкам в ВМА приводило к коррекции данного показателя, что выражалось в уменьшении количества закопанных шариков до уровня контрольных животных: получавших В2 - в 1,7 раза, ($p < 0,05$); Т8 - в 1,5 раза, ($p < 0,05$); и С5 - в 1,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с животными в ВМА без лечения. При применении исследуемых соединений у самцов эффект был отмечен в группах животных, получавших В2 и С5: в этом случае количество закопанных шариков, было меньше в 1,5 ($p < 0,05$) и 1,7 раза ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с самцами в ВМА без лечения (см. рисунок 23). Введение препаратов сравнения также вызывало снижение уровня

стереотипности поведения крыс, что выразилось в снижении числа закопанных шариков у самок в 1,6 раз и у самцов в 3,6 раза в случае amitriptiline, а также у самок в 1,3 раза и у самцов в 2 раза в случае risperidone.

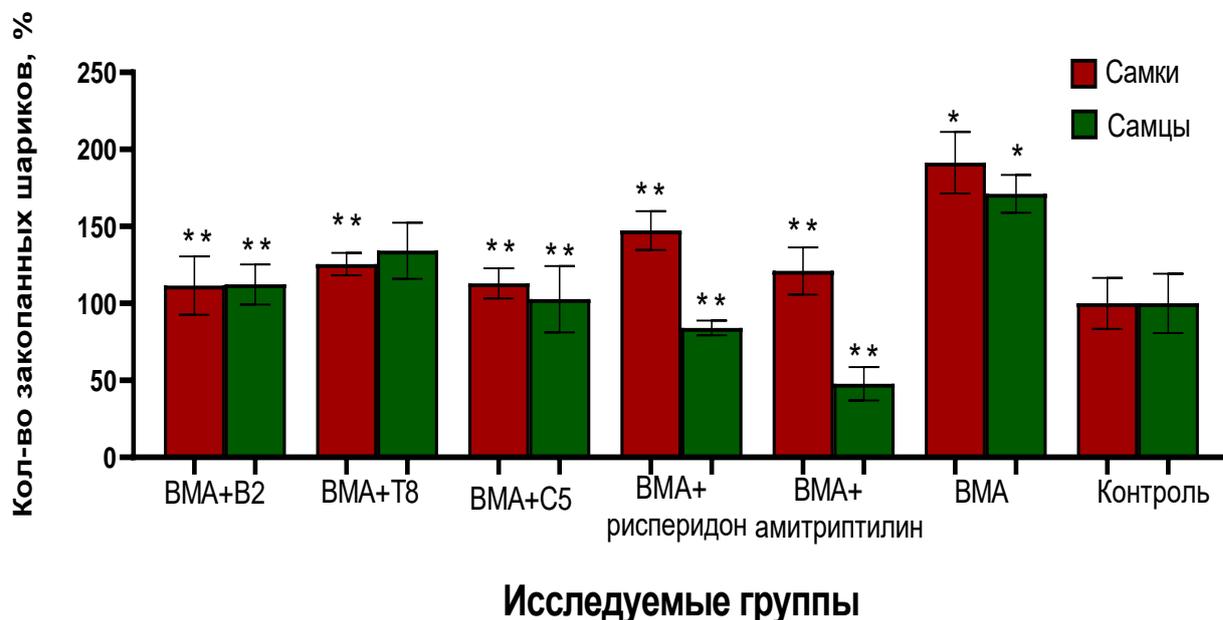


Рисунок 23 – Влияние 7-дневного введения соединений B2, T8 и C5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Закапывание шариков» (по оси абсцисс – группы животных, по оси ординат – количество закопанных шариков, %)

Примечание: * - статистически значимые отличия по отношению к животным контрольной группы при $p < 0,05$; ** - статистически значимые различия по отношению к животным без лечения (BMA) при $p < 0,05$

«Открытое поле» расширенный

Во 2 сессию теста «Открытое поле» расширенный, при анализе взаимодействия животных с новым несоциальным объектом, статистически значимых отличий между контрольными животными и крысами в ВМА во всех исследуемых группах не отмечалось.

Что касается анализа поведения крыс в 3-ю сессию теста, то здесь была отмечена статистически значимая разница между контрольными крысами и крысами в ВМА: поведение самок и самцов в ВМА в 3 сессию эксперимента характеризовалось снижением времени пребывания с социальным объектом (незнакомой крысой) в центральной зоне модели в 4,0 ($p < 0,05$) и в 2,3 ($p < 0,05$) раза соответственно по сравнению с группой контроля.

Введение В2 и Т8 самцам с моделью аутизма приводило к увеличению этого показателя в 5,2 ($p < 0,05$) и 6,4 ($p < 0,05$) раза по сравнению с самцами в ВМА без «лечения». Кроме того, в этих группах была выявлена тенденция ($0,05 < p < 0,1$) к увеличению продолжительности нахождения крыс в центральной части модели с незнакомой крысой (показатель социализации животных) по сравнению с контрольными самцами (рисунок 24). При введении исследуемых соединений самкам крыс в ВМА статистически значимых отличий от значений контрольной группы не обнаружено, что можно также трактовать как корригирующее действие.

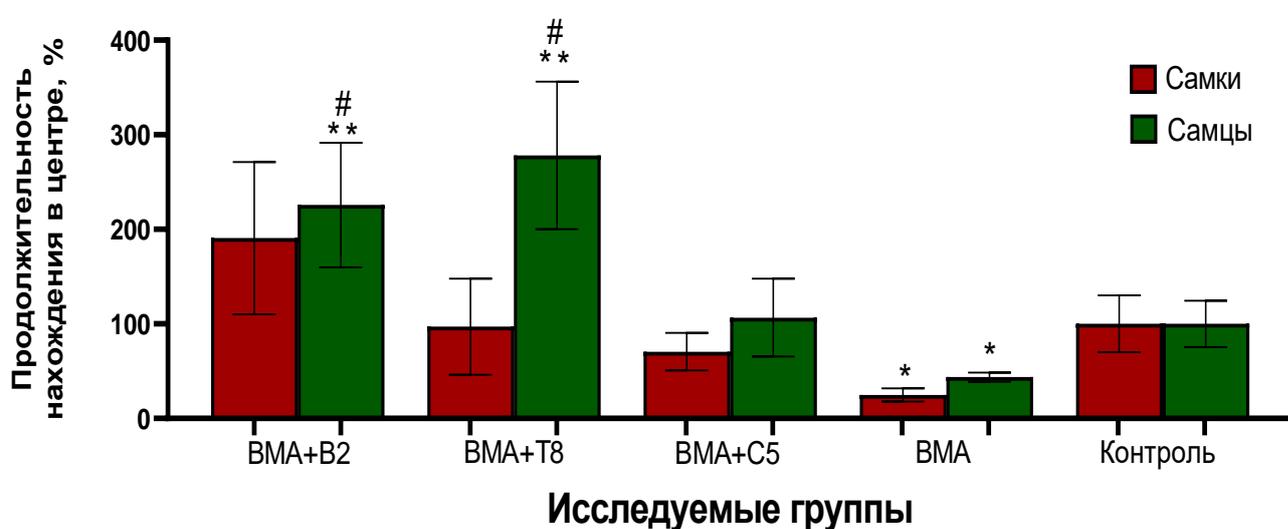


Рисунок 24 – Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Открытое поле» расширенный (по оси абсцисс – группы животных, по оси ординат – продолжительность нахождения в центре, %)

Примечание: * - статистически значимые отличия по отношению к животным контрольной группы при $p < 0,05$; ** - статистически значимые различия по отношению к животным без лечения (ВМА) при $p < 0,05$; # – тенденция $0,05 < p < 0,1$ по отношению к контрольной группе.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В связи с многообразием психоэмоциональных и когнитивных нарушений, поиск и разработка препаратов с различным спектром психотропной активности остается актуальной задачей фармакологии. Литературные данные свидетельствуют о том, что когнитивные и психоэмоциональные нарушения требуют комплексного подхода в фармакологической коррекции. Ранее было показано, что такой подход характерен для соединений, содержащих в структуре четырехкоординированный атом фосфора, проявляющих различные психотропные свойства, но при этом не обладающих антихолинэстеразной активностью [35, 43, 64, 67]. Казанскими фармакологами в этой области было исследовано множество соединений, среди которых фосеназид - препарат, внедренный в клиническую практику и КАПАХ, находящийся на завершающей стадии доклинических исследований [27, 64, 69]. Было отмечено, что производные фосфорилированных карбоновых кислот обладают анксиолитической, антидепрессивной активностью, способны оказывать влияние на процессы обучения и память [35, 43, 64, 69], что диктует необходимость дальнейшего изучения новых фосфорсодержащих соединений, как платформы для разработки потенциальных ЛС с психотропной активностью. Преимуществом новых химически полифункциональных производных ФКК является введение в структуру аминокислотного и триазолтионного фрагментов, также обладающих биологической активностью [77, 80, 109, 124, 125], а их объединение с ФКК может привести к синергическому фармакологическому эффекту [118]. Преимуществом новых соединений ряда фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот является наличие незамещенной гидразидной группы в фосфорильном фрагменте всех соединений, а также то, что два соединения из четырех являются производными не уксусной, а муравьиной кислоты.

В последние годы с целью рационализации экспериментальной деятельности по поиску новых фармакологически активных веществ часто применяется анализ

взаимосвязей «структура – активность» с использованием программ компьютерного прогнозирования. Благодаря существованию обширной базы данных химических структур с подробным описанием их возможных фармакологических эффектов, программы позволяют проводить точное и достоверное определение биологической активности исследуемых соединений. Особую популярность, ввиду легкости в использовании и высокой прогностической активности, имеет программа PASS [34, 35, 94]. Установлено, что характер биологической активности потенциальных ЛС напрямую зависит от структурных особенностей групп, которые входят в состав молекулы, а любое изменение в структуре может привести к изменениям показателей компьютерного прогноза и фармакологической активности в эксперименте. Так, соединения В3 и АН15, являясь солями этилового эфира глицина и арилфосфиновой кислоты, и имея разницу лишь в структуре анионных фрагментов, отличаются по показателям компьютерного прогноза: для соединения АН15 прогноз показал невысокую вероятность мнотропной активности, тогда как для соединения В3 прогнозировалась высокая вероятность активности $P_a=0,771$. Кроме того, в экспериментах соединение АН15 проявило некоторые анксиолитические свойства, а соединение В3 - антидепрессивные.

При проведении прогноза программой PASS для соединений ряда N-замещённых аммонийных солей арилфосфиновых кислот оценивали вероятность активности и катионного, и анионного фрагмента, поскольку анионный фрагмент содержит атом фосфора с основными фармакофорами, а в основе катионного фрагмента лежат эфиры аминокислот, соответственно каждый фрагмент может иметь фармакологическую активность. В данном случае, в таблицу результатов вносили более высокий показатель вероятности интересующего вида психотропной активности из полученных. Проведенный анализ соответствия прогнозируемой активности программой PASS и результатов экспериментов показал, что прогнозируемая программой психотропная активность (вероятная активность выше 0,3) совпала с результатами экспериментов в 68% случаев, что доказывает рациональность использования данной программы при поиске

психотропной активности в новых рядах фосфорсодержащих соединений с четырехкоординированным атомом фосфора.

При исследовании анксиолитической активности соединений ряда N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот были выявлены следующие закономерности: в основе катионного фрагмента четырех активных соединений В4 (12 мг/кг), В15 (50мг/кг и 100 мг/кг), В16 (30 мг/кг), В17(50мг/кг и 100 мг/кг) лежит D, L-аланин, что было отмечено в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Темно-светлая камера». В основе анионных фрагментов соединений В16 и В17 лежат кислоты, активность которых ранее не была описана в литературе. В связи с этим целесообразен синтез новых соединений на их основе, с целью выявления их роли в реализации анксиолитической активности соединений.

Анализ экспериментальных данных по поиску антидепрессивной активности показал, что введение 2-этокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этокси-2-оксоэтил) (4-хлорфенил) фосфиновой кислоты (В3) в обеих дозах (30 мг/кг и 60 мг/кг) привело к уменьшению длительности периодов замиранья в тесте «Поведенческое отчаяние». Стоит отметить, что высокая вероятность наличия антидепрессивных свойств для 2-этокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этокси-2-оксоэтил) (4-хлорфенил) фосфиновой кислоты (В3) была спрогнозирована программой Prediction Activity Spectral for Substances $P_a=0,641$. Кроме того, в данном эксперименте проявили активность соединения В14, В27 и В35. Анализ химической структуры активных соединений показал, что в основе их катионных фрагментов лежат разные аминокислоты: у В3 и В14 – глицин, у В27 – фенилаланин, у В35 – валин. Однако все соединения объединяет то, что в основе их анионных фрагментов лежат представители одного ряда фосфорорганических кислот, которые содержат атом галогена (хлор или фтор) в пара - положении относительно атома фосфора.

Проведенные эксперименты по исследованию анксиолитической активности в ряду фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на моделях «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темно-светлая камера»,

«Конфликтная ситуация с водной депривацией» показали, что для всех соединений ряда характерно наличие транквилизирующих свойств. Эти данные совпали с результатами компьютерного прогноза программой PASS, которая также прогнозировала наличие активности у всех исследуемых соединений. Наибольшая вероятность анксиолитической активности прогнозировалась программой PASS для дифенилфосфинилметангидразида (С5) $P_a = 0,647$, что также было подтверждено в эксперименте: соединение дифенилфосфинилметангидразид (С5) (15 мг/кг и 30 мг/кг) было активно во всех трех тестах по выявлению транквилизирующих свойств.

Вероятность антидепрессивной активности в диапазоне $0,3 < P_a < 0,6$ кислот прогнозировалась для трех соединений ряда фосфорилированных производных уксусной и муравьиной, однако их активность в эксперименте в тесте «Поведенческое отчаяние» не была выявлена.

В ряду производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов компьютерный прогноз программой Prediction of Activity Spectra for Substances показал наибольшую вероятность анксиолитической активности для соединения Т39 - 3-[(дифенилфосфорил)метил]-1 [(морфолин-4-ил) метил]-4-фенил-4,5-дигидро-1Н-1,2,4-триазол-5-тиона. Активность этого соединения была подтверждена экспериментально. Однако наибольшие транквилизирующие свойства в эксперименте были выявлены у соединения 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (Т8) при проведении теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» в дозе 12 мг/кг и теста «Темно-светлая камера» в дозе 6 мг/кг. Преимуществом Т8 по сравнению с другими представителями фосфорсодержащих тиосемикарбазидов является наличие ароматического фрагмента в тиосемикарбазидной части структуры. Программа PASS для этого соединения прогнозировала среднюю вероятность активности ($P_a=0,532$). Антидепрессивная активность не была спрогнозирована данной программой, или вероятность таковой была ниже 0,3 ($P_a < 0,3$) для соединений ряда производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов. Однако были проведены эксперименты на модели «Поведенческое

отчаяние» для соединений данного ряда, введение которых вызывало повышение двигательной активности животных в тесте «Открытое поле». Среди исследованных четырех соединений, три (Т8, Т13 и Т39) вызывали снижение длительности периодов замиранья в тесте «Поведенческое отчаяния», что может свидетельствовать об антидепрессивной активности. Общим в химической структуре данных соединений является наличие дополнительного фенильного заместителя. Кроме того, если отследить синтетический путь данного ряда, то можно заметить, что одно соединение было получено из другого в ходе дополнительных химических реакций.

В целом, прогноз нейротропной и психотропной активности соединений ряда тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов программой PASS совпал с результатами экспериментов на 50%.

При проведении исследований по поиску способности соединений влиять на обучение и память были отобраны 6 соединений – представители трех изучаемых рядов, показавшие высокую вероятность наличия данного вида активности программой PASS и/или введение которых вызывало увеличение исследовательской активности мышей в тесте «Открытое поле». Полученные в ходе тестирования данные свидетельствуют об активности соединений ряда N-замещённых аммонийных солей арилфосфиновых кислот, которые образованы в результате реакции арилфосфиновой кислоты и этилового эфира глицина: АН15 в тесте «Т-образный лабиринт», В3 в тесте «Водный лабиринте Морриса». В то же время, у представителя того же ряда – соединения В4, соли гидразида D, L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил) арилфосфиновой кислотой, мнемотропной активности в эксперименте выявлено не было. Вероятно, это связано с наличием в структуре соединений В3 и АН15 этилового эфира глицина: глицин, легко проникая в ЦНС, повышает умственную работоспособность, нормализует и активирует процессы защитного торможения в ЦНС, уменьшает психоэмоциональное напряжение [68]. Эти свойства могут приводить к улучшению показателей обучаемости и памяти у животных, выявленных в ходе эксперимента.

В ряду фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,3-триазол-3-тионов соединение 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (Т8), относящееся к 2-[(дифенилфосфорил)ацетил] гидразинкарботиоамидам, проявило исследуемый вид активности в обоих тестах: «Т-образный лабиринт» и «Водный лабиринт Морриса». Стоит отметить, что эффективность соединения Т8 в тесте, после 14-дневного введения соединений, была сопоставима с таковой у структурного аналога КАПАХа и препаратов сравнения пирацетама и мемантина. В тесте «Водный лабиринт Морриса» соединение Т8 проявило активность в более низкой дозе – 1/100 от ЛД₅₀, по сравнению со скрининговым тестированием в «Т-образном лабиринте», что, вероятно, связано с большей стрессогенностью водного лабиринта (в связи с помещением крыс в воду) либо с видовой специфичностью, используемых в тестировании животных. Необходимо подчеркнуть, что препараты сравнения мемантин и пирацетам были активны только после 14-дневного введения, в отличие от исследуемых производных фосфорилированных карбоновых кислот, введение которых приводило к статистически значимым изменениям в поведении животных в условиях, как четырехдневного, так и 14-дневного опыта.

На основании полученных экспериментальных данных по изучению психотропных свойств трех рядов соединений, было отобрано по одному наиболее активному представителю из каждого ряда для проведения тестирований по оценке влияния соединений на поведение крыс в ВМА. [28, 29, 30]. Дифенилфосфинилметангидразид (С5), 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (Т8) и 2-этокси-2-оксоэтанаммониевую соль (2-этокси-2-оксотил) фенилфосфиновой кислоты (В2) вводили группам крыс в ВМА, разделенным по половому признаку. Такой подход был обусловлен тем, что в настоящее время отсутствует четкое представление о характере половых различий в поведенческих нарушениях у крыс в ВМА. Этот факт подтверждается тем, что одни исследователи не выделяют группы по половым признакам [111], другие используют в экспериментах только самцов, аргументируя отсутствием нарушений

у самок в ВМА [107]. Кроме того, проведенные нами ранее исследования показали наличие полового диморфизма у крыс в ВМА как в нарушении поведения, так и в уровне экспрессии гена *Drd1* в структурах мозга [119].

В рамках диссертационного исследования не была поставлена задача выявить наличие полового диморфизма при введении соединений крысам в ВМА, разделение на подгруппы по половым признакам на этой стадии было обусловлено необходимостью не пропустить возможного корригирующего эффекта соединений. Так, в проведенных экспериментах наличие стереотипности в поведении, было отмечено как у самок, так у самцов - количество закопанных шариков в обеих подгруппах было значительно больше, чем у контрольных. Стоит отметить, что все три соединения оказывали влияние на исследуемый показатель, снижая уровень стереотипности – количество закопанных шариков в группах «леченых» крыс было значительно меньше, чем в группах без «лечения». Также крысы в ВМА демонстрировали высокий уровень тревожности по сравнению с контрольными животными: наблюдалось статистически значимое уменьшение времени нахождения крыс в ОР лабиринта. Анализ влияния соединений на уровень тревожности показал более высокую эффективность у 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамида (Т8): введение этого соединения повышало длительность нахождения в ОР лабиринта крыс обеих подгрупп, по сравнению с показателями «нелеченых» крыс, причем, у самок показатели были соотносимы даже со значениями контрольных животных. Влияние на состояние тревожности соединений В2 и С5 можно также назвать корригирующим, поскольку не было статистически значимых отличий с контрольными крысами.

Тревожность - один из факторов, который существенно влияет на социальное поведение, инициацию и интенсивность социальных взаимодействий: чем выше тревожность, тем в большей степени будут нарушения в социальном поведении [89, 90].

Изменения социального поведения в обеих подгруппах крыс в ВМА отмечено в 3-ей сессии, в которой всем животным был предъявлен социальный

объект в виде незнакомой крысы того же пола. Нарушение социального поведения отмечено как в подгруппе самок, так и самцов в ВМА [26]. Соединения Т8 и В2 проявляли активность, демонстрируя статистически значимые отличия между «нелечеными» и «лечеными крысами. Следует отметить, что в большей степени коррекция социальных нарушений соединениями проявлялась в подгруппе самцов, где время общения с незнакомой крысой имело тенденцию к увеличению даже по сравнению с контрольными животными.

Учитывая роль воспалительных реакций в патогенезе различных патологий ЦНС, были проведены эксперименты по поиску противовоспалительной активности новых фосфорсодержащих соединений. Для этого были отобраны соединения В1, В2, В3, В15, В17, С5, проявившие различные виды психотропной активности и для которых компьютерный прогноз показал вероятность наличия противовоспалительных свойств. Для соединений ряда производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов противовоспалительная активность не прогнозировалась. В результате введение четырех из шести исследованных соединений уменьшало прирост объема лап мышей на модели каррагенинового отека, что может свидетельствовать о противовоспалительной активности. Для оценки сохранения данного вида активности при длительном (14 дней) введении исследуемых соединений, был проведен хронический эксперимент для двух наиболее активных по результатам острого эксперимента веществ В15 и С5. Сохранение эффекта в данном случае можно считать преимуществом перед некоторыми применяемыми в настоящее время психотропными средствами, эффект которых при длительном применении снижается или вовсе исчезает [116].

Результаты свидетельствуют о перспективности и необходимости дальнейшей разработки исследуемых рядов соединений 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-этокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этокси-2-оксотил) фенилфосфиновой кислоты (B2, 21 мг/кг) и 2-этокси-2-оксоэтанаммониевой соли (2-этокси-2-оксотил) (4-толил) фосфиновой кислоты (АН15, 100 мг/кг), в ряду N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-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,-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,-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,-триазол-3-тионов.

3) Противовоспалительную активность проявляют соединения – представители ряда фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот: дифенилфосфинилметангидрид – 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-оксоэтил) 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 пара - положении относительно атома фосфора в анионном фрагменте;

в) в ряду производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,3-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 (B3), дифенилфосфинилметангидразида (C5) и 2-[(дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамида (T8), 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 функции (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), а также исследование механизмов действия их нейрорепродуктивной 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 – дифенилфосфинилметангидрида (С5) как потенциального лекарственного средства.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Pa – Вероятность наличия активности

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances

В/б – Внутривнутрибрюшинное введение

ВМА – Вальпроатная модель аутизма

КАПАХ–2–хлорэтокси–пара–N–диметиламинофенилфосфорилацетогидразид

ЛС – Лекарственные средства

Pa – Вероятность наличия активности

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances

ОП – Открытое поле

ОР – Открытые рукава

ПКЛ – Приподнятый крестообразный лабиринт

РАС – Расстройства аутистического спектра

ФАГ – Фосфорилированные ацетогидразиды

ФКК – Фосфорилированные карбоновые кислоты

ФНП – Феназепам

ФС – Фосеназид

ЦНС – Центральная нервная система

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акарачкова, Е. С. Эпидемия COVID-19. Стресс-связанные последствия / Е. С. Акарачкова, О. В. Котова, Л. Р. Кадырова // Клинический разбор в общей медицине. – 2020. – Т. 2, № 16. – С. 16–24.
2. Атипичная депрессия: от фенотипа к эндофенотипу / Н. Г. Незнанов, Г. Э. Мазо, А. О. Кибитов, Л. Н. Горобец [и др.] // Социальная и клиническая психиатрия. – 2016. – Т. 26, № 3. – С. 5–16.
3. Атипичная симптоматика в клинике монополярной эндогенной депрессии / О. В. Петрунько, А. В. Швецова, Е. Г. Магонова, А. А. Хамарханова // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – Т. 88, № 5. – С. 72–75.
4. Балакин, Г. Ю. Поведенческое фенотипирование и его применение в современных биологических исследованиях / Г. Ю. Балакин, В. А. Синельникова, Н. К. Поляков, О. А. Андреюк // Научное обозрение. – 2019. – № 5. – С. 22–26.
5. Блюхерова, Н. А. О применении дифенизида в качестве транквилизатора при психических заболеваниях / Н. А. Блюхерова // Фармакология и токсикология фосфорорганических и других биологически активных веществ: сборник научных трудов КГМИ. – Казань, 1974. – Вып. 2. – С. 118–222.
6. Богдашина, О. Аутизм: определение и диагностика / О. Богдашина. – Донецк: Лебедь, 1999. – 84 с.
7. Божкова, Е. Д. Расстройства аутистического спектра: современное состояние проблемы (обзор) / Е. Д. Божкова, О. В. Баландина, А. А. Коновалов // Современные технологии в медицине. – 2020. – Т. 12, № 2. – С. 111–120.
8. Визель, А. А. Диметилксобутилфосфонилдиметилат (Димефосфон): применение в пульмонологии и фтизиатрии / А. А. Визель, А. О. Визель, Л. И. Щукина // Практическая пульмонология. – 2013. – № 3. – С. 40–44.
9. Визель, А. О. Новый аспект фармакологического подхода к соединениям фосфора: димефосфон / А. О. Визель, Р. С. Гараев. – Казань: Печать–Сервис–XXI век, 2011. – 189 с.

10. Влияние феназепама на амплитудные характеристики ритмов электрокортикограмм у крыс / А. В. Кан, В. А. Приходько, Ю. И. Сысоев, С. В. Оковитый // Бюллетень медицинской науки. – 2021. – Т. 4, № 24. – С. 108–111.
11. Возможности и перспективы поведенческого теста «Водный лабиринт Морриса» / Д. П. Чернюк, А. В. Большакова, О. Л. Власова, И. Б. Безпрозванный // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2021. – Т. 107, № 3. – С. 267–287.
12. Воронина, Т. А. Новые лекарственные средства лечения нейродегенеративных заболеваний / Т. А. Воронина // Современное состояние исследований, диагностики и терапии нейродегенеративных заболеваний (болезни Альцгеймера, Паркинсона и др.). – Москва, 2005. – С. 87–91.
13. Воронина, Т. А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Т. А. Воронина, Р. У. Островская // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва: Медицина, 2005. – С. 308–320.
14. Воронина, Т. А. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия ноотропных веществ / Т. А. Воронина, С. Б. Серединин // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва: Медицина, 2005. – С. 263.
15. Воронина, Т. А. Экспериментальный анализ транквилизирующего действия сверхмалых доз феназепама / Т. А. Воронина, Г. М. Молодавкин // Российский химический журнал. – 1999. – № 5. – С. 89–96.
16. Гараев, Р. С. К вопросу о взаимоотношении малотоксичных неантихолинэстеразных соединений с ингибитором холинэстеразы нибуфином / Р. С. Гараев, И. А. Студенцова // Современные проблемы фармакологии: материалы III съезда фармакологов СССР. – Киев, 1971. – С. 66.
17. Гарибова, Т. Л. Поведенческие экспериментальные модели депрессии / Т. Л. Гарибова, В. А. Крайнёв, Т. А. Воронина // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2017. – № 3. – С. 14–19.

18. Горячева, Т. Г. Расстройства аутистического спектра у детей. Метод сенсомоторной коррекции. Учебно-методическое пособие / Т. Г. Горячева, Ю. В. Никитина. – Москва: Генезис, 2018. – 168 с.
19. Григоренко, Е. Л. Расстройства аутистического спектра / Е. Л. Григоренко. – Москва: Практика, 2018. – 280 с.
20. Гусель, В. А. Экспериментальное и клиническое изучение противоэпилептического эффекта дифенизида / В. А. Гусель, Г. Ф. Ржевская, И. С. Токмовцева // Фармакология и токсикология фосфорорганических соединений и других биологически активных веществ: сб. науч. тр. – Казань, 1974. – Вып. 2. – С. 26–29.
21. Димефосфон проявляет противовоспалительную и антиоксидантную активность на модели хронического аутоиммунного воспаления / И. Х. Валеева, А. Ф. Титаренко, В. Н. Хазиахметова, Л. Е. Зиганшина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74, № 3 – С. 13–16.
22. Динамика развития поведенческих нарушений у трансгенных мышей с моделью болезни Альцгеймера / И. И. Семина, А. З. Байчурина, Е. А. Макарова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 11. – С. 568–571.
23. Заиконникова, И. В. Фармакологическая характеристика транквилизирующего действия гидифена / И. В. Заиконникова, А. В. Вальдман, М. М. Козловская // Фармакология и токсикология. – 1980. – Т. 43, № 4. – С. 334–336.
24. Зиганшина, Л. Е. Влияние димефосфона на воспалительную реакцию / Л. Е. Зиганшина, И. А. Студенцова, И. В. Заиконникова // Фармакология и токсикология. – 1988. – Т. 51, № 3. – С. 58.
25. Изучение анксиолитической активности соединения б–19 в тесте тёмно–светлая камера / Е. А. Золотова, Б. Р. Нурмагомедова, Д. В. Мальцев [и др.] // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. – 2017. – № 1. – С. 35–41.
26. 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, № 1. – С. 110–129.

27. Исследование метаболических нарушений у крыс при воздействии гипобарической гипоксии и разработка подходов коррекции путём одновременного воздействия на разные звенья патогенеза / И. И. Семина, А. З. Байчурина, Е. В. Шиловская [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2021. – Т. 102, № 5. – С. 654–662.

28. Исследование поведенческих эффектов новых фосфорилированных тиосемикарбазидов в эксперименте / А. В. Никитина, Д. О. Никитин, И. И. Семина [и др.] // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2023. – № 3. – С. 71–79.

29. 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.

30. 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.

31. Калинина, М. А. Комплексное лечение расстройств аутистического спектра малыми дозами рисперидона и мемантина у детей / М. А. Калинина, Г. В. Козловская, Н. И. Голубева // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – 2016. – № 1. – С. 25–29.

32. Современные представления о патогенезе болезни Альцгеймера: новые подходы к фармакотерапии (обзор) / Ю. К. Комлева, Н. В. Кувачева, О. Л. Лопатина [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 138–148.

33. Компьютерное прогнозирование спектров биологической активности химических соединений: возможности и ограничения / Д. А. Филимонов, Д. С. Дружиловский, А. А. Лагунин [и др.] // Biomedical Chemistry: Research and Methods. – 2018. – Vol. 1, No. 1. – P. e00004.

34. Компьютерный прогноз спектров биологической активности органических соединений: возможности и ограничения / В. В. Поройков, Д. А. Филимонов, Т. А.

Глориозова [и др.] // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2019. – Т. 12. – С. 2143–2154.

35. Компьютерный прогноз, синтез и психотропные свойства гидразиниевых солей фосфилацетогидразидов / Е. В. Шиловская, И. И. Семина, Р. И. Тарасова [и др.] // Химико–фармацевтический журнал. – 2013. – Т. 47, № 4. – С. 26–29.

36. Коррекция поведенческих нарушений у мышей с генетической моделью болезни Альцгеймера препаратом с мультимодальным механизмом действия КАПАХ / Е. А. Макарова, Р. И. Тарасова, И. И. Семина [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 470–473.

37. Котова, О. В. Современные методы диагностики и лечения тревожных и депрессивных расстройств / О. В. Котова, А. А. Беляев, Е. С. Акарачкова // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2021. – Т. 5, № 10. – С. 648–653.

38. Краснов, В. Н. Расстройства аффективного спектра / В. Н. Краснов. – Москва: Практическая медицина, 2011. – 432 с.

39. Кутько, И. И. Депрессии (актуальные проблемы синдромологической и нозологической диагностики, лечения, реабилитации и профилактики на современном этапе) / И. И. Кутько, О. А. Панченко, А. Н. Линев // Новости медицины и фармации. – 2015. – № 8. – С. 20–23.

40. Мазо, Г. Э. Депрессивное расстройство / Г. Э. Мазо, Н. Г. Незнанов. – Москва: ГЭОТАР–Медиа, 2019. – 112 с.

41. Макарова, Е. А. Компьютерный прогноз и экспериментальное обоснование поиска соединений с нейротропной активностью среди веществ, содержащих четырехкоординированный атом фосфора : диссертация кандидата биологических наук / Макарова Елена Александровна. – Казань, 2015. – 189 с.

42. Медведев, В. Э. Расстройства тревожно–депрессивного спектра на фоне COVID–19: возможности терапии / В. Э. Медведев // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2021. – Т. 13, № 2. – С. 111–116.

43. Механизмы психотропного действия гидразидов фосфорилированных карбоновых кислот / И. И. Семина, Е. В. Шиловская, Р. И. Тарасова [и др.] // Химико–фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36, № 4. – С. 3–6.

44. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов, Н. Д. Бунятян, А. Н. Васильев [и др.]. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
45. Муровец, В. О. Особенности влияния мемантина на обучение крыс в водном тесте Морриса / В. О. Муровец, А. А. Александров // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2020. – Т. 70, № 1. – С. 50–61.
46. Нейропротективное действие КАПАХ, представителя нового класса ноотропов–неантихолинестеразных фосфорорганических соединений / И. И. Семина, Н. А. Тихонова, А. З. Байчурина [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 1999. – № 3. – С. 32–36.
47. Никитин, Д. О. Изучение влияния КАПАХ на когнитивные функции, процессы памяти и поведение самцов и самок крыс в сравнении с мемантином и ривастигмином / Д. О. Никитин, И. И. Семина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 114.
48. 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.
49. Парфенов, В. А. Сосудистые когнитивные нарушения и хроническая ишемия головного мозга (дисциркуляторная энцефалопатия) / В. А. Парфенов // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2019. – Т. 11, № 3. – С. 61–67.
50. 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. ; заявители, патентообладатели: ФГБОУ ВО «КНИТУ», ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

51. Патент № 2062099 С1. 92011333/14 Средство для лечения алкоголизма. заявл.: 10.12.1992 : опубл.: 20.06.1996 / Р. И. Тарасова, Н. А. Блюхерова, О. М. Калина, Г. Ф. Ржевская; заявитель, патентобладатель: ФГБОУВ ПО КНИТУ.
52. Патент № 2440981 С1. Фенилгидразид (4-фенил-2-пирролидон-1-ил)-уксусной кислоты, обладающий ноотропной, антидепрессивной и анксиолитической активностью: № 2010147346/04 : заявл. 12.11.2010 : опубл. : 27.01.2012 / В. М. Берестовицкая, О. С. Васильева, Е. С. Остроглядов, В. И. Петров, И. Н. Тюренков, В. В. Багметова ; заявитель, патентобладатель: РГПУ им. А.И. Герцена, ВолГМУ.
53. Патент № 2141961 С1. Эфиры фосфиновых кислот или их физиологически приемлемые соли, фармацевтическая композиция на их основе и способ коррекции нарушений обменных процессов мозга: № 94000647/04 : заявл. 11.01.1994 : опубл. 27.11.1999 / Р. И. Тарасова, И. И. Семина, В. А. Павлов, В. В. Москва; заявитель, патентобладатель: ФГБОУ ВО «КНИТУ» Минздрава России, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.
54. Поведенческая фармакология как основной подход в изучении эффективности потенциальных психотропных средств: анализ современных методов (обзор) / И. И. Семина, А. З. Байчурина, Д. О. Никитин [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т. 12, № 1. – С. 161–181.
55. Пожилова, Е. В. Влияние антигипоксантов на развитие каррагенин-индуцированного воспаления / Е. В. Пожилова // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. – №+ 4. – С. 61–67.
56. 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, Д. О. Никитин [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2022. – Т. 72, № 6. – С. 862–879.
57. Полуэктов, М. Г. Возможности применения препарата Димефосфон в неврологии и нейрохирургии / М. Г. Полуэктов, И. Г. Подымова, В. Л. Голубев // Доктор. Ру. – 2015. – № 5–6. – С. 5–10.

58. Постановление Правительства Российской Федерации от 29.12.2021 № 2544 «О внесении изменений в государственную программу Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» // Официальный портал правовых актов. – URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202112310036?ysclid=ltzhjco5fq882688677> (дата обращения 20.03.2024).
59. Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASS Online / Д. А. Филимонов, А. А. Лагунин, Т. А. Глориозова [и др.] // Химия гетероциклических соединений. – 2014. – № 3. – С. 483–499.
60. Распространенность тревожно-депрессивных расстройств у лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями / Ю. А. Котова, О. Н. Красноручкая, Н. В. Страхова, А. А. Зуйкова // Молодежь и медицинская наука: материалы конференции. – Тверь, 2020. – С. 315–317.
61. Связь эпилепсии и расстройств аутистического спектра / Н. Н. Маслова, В. А. Скоробогатова, Н. В. Юрьева, Н. Е. Маслов // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2017. – Т. 9, № 3. – С. 54–63.
62. Семёнова, А. А. Модели аутизма и методики оценки аутистически-подобного поведения у животных / А. А. Семёнова, О. Л. Лопатина, А. Б. Салмина // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2020. – Т. 70, № 2. – С. 147–162.
63. Семина И. И. Изучение возможности коррекции нарушений поведения в вальпроатной модели аутизма у крыс 2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенилфосфорил-ацетогидразидом (КАПАХ) / И. И. Семина, Д. О. Никитин, Е. В. Валеева // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 133.
64. Семина, И. И. Разработка новых потенциальных лекарственных средств с психотропной активностью среди фосфорилацетогидразидов и других производных фосфорилированных карбоновых кислот – приоритетное направление Казанской школы психофармакологов / И. И. Семина, А. З. Байчурина // Казанский медицинский журнал. – 2016. – Т. 97, № 1. – С. 148–155.

65. Семянникова, А. А. Расстройства аутистического спектра: классификации, определение понятий, симптомы / А. А. Семянникова // Психология и педагогика: методика и проблемы практического применения. – 2013. – № 32. – С. 67–71.
66. Сидоров К. К. Классификация токсичности веществ при введении под кожу и в брюшную полость животного. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии: справочник / К. К. Сидоров. – Москва: Медицина, 1977. – 197 с.
67. Синтез и нейротропная активность в ряду гидразидов фосфорилуксусных кислот / Е. А. Макарова, Р. И. Тарасова, И. И. Семина [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8-2. – С. 470–473.
68. Спектр фармакологических эффектов глицина / Т. Потупчик, О. Веселова, Л. Эверт [и др.] // Врач. – 2015. – № 12. – С. 14–16.
69. Структура и биологическое действие потенциальных психотропных средств – Фосеназида и КАПАХ. Сравнительный анализ / Р. И. Тарасова, И. И. Семина, О. В. Воскресенская [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2007. – Т. 41, № 2. – С. 11–14.
70. Тезикова, Е. А. Разнообразие стереотипий у детей с расстройствами аутистического спектра // Специальная педагогика и психология: традиции и инновации. – Москва, 2019. – С. 108–113.
71. Тювина, Н. А. Атипичная депрессия: критерии выделения, систематика, подходы к терапии / Н. А. Тювина, М. С. Вербицкая, А. Е. Столярова // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2020. – Т. 12, № 2. – С. 98–103.
72. Фаттахов, Ш. А. Направленный синтез N-содержащих производных фосфорилуксусных кислот, обладающих биологической активностью: автореферат кандидата химических наук / Фаттахов Шамиль Айдарович; КНИТУ. – Казань, 2010. – 20 с.
73. Хазиахметова, В. Н. Сравнительное изучение анальгетической активности отечественного анксиолитика дневного действия мебикара с amitриптилином и diazepamом (экспериментальное исследование) / В. Н. Хазиахметова, К. В. Лучай,

- Л. Е. Зиганшина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т. 78, № 3. – С. 9–12.
74. Хафизьянова, Р. Х. Церебропротекторные свойства малотоксичных неантихолинэстеразных фосфорорганических соединений (экспериментальное исследование): автореферат диссертации доктора медицинских наук / Хафизьянова Рофия Хафизьяновна; Казанский ГМУ. – Казань, 1991. – 44 с.
75. Шарифьянова, Д. С. Особенности эмоционально-волевой сферы детей с расстройствами аутистического спектра / Д. С. Шарифьянова, Л. М. Лапшина // Актуальные вопросы социализации детей с ограниченными возможностями здоровья: материалы конференции. – 2014. – С. 108–113.
76. Шевлякова, В.И. Ранний детский аутизм: основные симптомы, подходы к коррекции / В. И. Шевлякова // Вестник ВГПГК. – 2020. – № 1. – С. 46–55.
77. Ших, Е. В. Рациональная дотация микронутриентов как способ повышения качества жизни у пациенток с климактерическим синдромом / Е. В. Ших, Л. Ю. Гребенщикова // Медицинский совет. – 2017. – № 13. – С. 166–171.
78. Применение фосфабензида у больных с интеллектуально–мнестическими расстройствами / М. С. Щелкунова, Н. А. Блюхерова, Р. Х. Хафизьянова, К. К. Яхин // Человек и лекарство: материалы конгресса. – Москва, 1995. – С. 102.
79. Экспериментальное изучение анксиолитической активности низкомолекулярных миметиков 1–й, 2–й и 4–й петель мозгового нейротрофического фактора / Л. Г. Колик, А. В. Надорова, Е. М. Григоревских [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83, № 11. – С. 3–7.
80. 1, 2, 4-Triazole-based anticonvulsant agents with additional ROS scavenging activity are effective in a model of pharmaco-resistant epilepsy / B. Kaproń, R. Czarnomysy, M. Wysokiński [et al.] // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. – 2020. – Vol. 35, No. 1. – Pp. 993–1002.
81. A systematic review and metaanalysis of the effectiveness of acetylcholinesterase inhibitors and memantine in treating the cognitive symptoms of dementia / R. Knight, M.

Khondoker, N. Magill [et al.] // *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. – 2018. – Vol. 45. – Pp. 131–151.

82. Abdel–Salam, O. M. E. Evaluation of the anti–inflammatory and anti–nociceptive effects of different antidepressants in the rat / O. M. E. Abdel–Salam, S. M. Nofal, S. M. El-Shenawy // *Pharmacological research*. – 2003. – Vol. 48, No. 2. – Pp. 157–165.

83. Antioxidant, Cytotoxic Activities and Structure–Activity Relationship of Gallic Acid–based Indole Derivatives / H. Khaledi, A. A. Alhadi, W. A. Yehye [et al.] // *Archiv der Pharmazie*. – 2011. – Vol. 344, No. 11. – Pp. 703–709.

84. Antiviral Activity of 2- Antiviral activity of 2–acetylpyridine thiosemicarbazones against herpes simplex virus / Jr. C. Shipman, S. H. Smith, J.C. Drach, D. L. Klayman // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 1981. – Vol. 19, No. 4. – Pp. 682–685.

85. ARTEMIDA Trial (a randomized trial of efficacy, 12 months international double–blind Actovegin) a randomized controlled trial to assess the efficacy of Actovegin in poststroke cognitive impairment / A. Guekht, I. Skoog, S. Edmundson [et al.] // *Stroke*. – 2017. – Vol. 48, No. 5. – Pp. 1262–1270.

86. Association of stress-related disorders with subsequent neurodegenerative diseases / H. Song, J. Sieurin, K. Wirdefeldt [et al.] // *JAMA neurology*. – 2020. – Vol. 77, No. 6. – Pp. 700–709.

87. Atypical depression in bipolar affective disorder: a clinical case study / M. S. Verbitskaya, N. A. Tyuvina, G. L. Krenkel [et al.] // *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. – 2020. – Vol. 12, No. 6. – Pp. 144–150.

88. Benazzi, F. Atypical depression in private practice depressed outpatients: a 203-case study / F. Benazzi // *Comprehensive psychiatry*. – 1999. – Vol. 40, No. 1. – Pp. 80–83.

89. Blackford, J. U. Neural substrates of childhood anxiety disorders: A review of neuroimaging findings / J. U. Blackford, D. S. Pine // *Child and adolescent psychiatric clinics of North America*. – 2012. – Vol. 21, No. 3. – Pp. 501–525.

90. Carlisi, C. O. The role of prefrontal–subcortical circuitry in negative bias in anxiety: Translational, developmental and treatment perspectives / C. O. Carlisi, O. J. Robinson // *Brain and Neuroscience Advances*. – 2018. – Vol. 2. – Pp. 1–12.

91. Cerebrolysin for vascular dementia / S. Cui, N. Chen, M. Yang [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2019. – No. 11. – Pp. 1–56.
92. Changes in brain metabolic connectivity underlie autistic-like social deficits in a rat model of autism spectrum disorder / H. Cho, C. H. Kim, E. Q. Knight [et al.] // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7, No. 1. – Pp. 1–16.
93. Chen, C. Recent advances in the study of the comorbidity of depressive and anxiety disorders / C. Chen // *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. – 2022. – Vol. 31, No. 4. – Pp. 355–358.
94. Computer-aided prediction of biological activity spectra for organic compounds: The possibilities and limitations / V. V. Poroikov, D. A. Filimonov, T. A. Glorizova [et al.] // *Russian Chemical Bulletin*. – 2019. – Vol. 68. – Pp. 2143–2154.
95. Cummings, J. Drug development for psychotropic, cognitive-enhancing, and disease-modifying treatments for Alzheimer's disease / Cummings J. // *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*. – 2021. – Vol. 33, No. 1. – Pp. 3–13.
96. Dickie, E. W. Amygdala responses to unattended fearful faces: interaction between sex and trait anxiety / E. W. Dickie, J. L. Armony // *Psychiatry Research: Neuroimaging*. – 2008. – Vol. 162, No. 1. – Pp. 51–57.
97. Difference in treatment outcome in outpatients with anxious versus nonanxious depression: a STAR* D report / M. Fava, A. J. Rush, J. E. Alpert [et al.] // *American Journal of Psychiatry*. – 2008. – Vol. 165, No. 3. – Pp. 342–351.
98. From the selective serotonin transporter inhibitor citalopram to the selective norepinephrine transporter inhibitor talopram: synthesis and structure-activity relationship studies / J. N. Eildal, J. Andersen, A. S. Kristensen [et al.] // *Journal of Medical Chemistry*. – 2008. – Vol. 51, No. 10. – Pp. 3045–3048.
99. Gender-specific behavioral and immunological alterations in an animal model of autism induced by prenatal exposure to valproic acid / T. Schneider, A. Roman, A. Basta-Kaim [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2008. – Vol. 33, No. 6. – Pp. 728–740.
100. Geyer, M. A. The role of preclinical models in the development of psychotropic drugs / Geyer M. A. – Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. – 455 p.

101. Gotlib, I. H. Cognition and depression: current status and future directions / I. H. Gotlib, J. Joormann // *Annual review of clinical psychology*. – 2010 – Vol. 6. – Pp. 285–312.
102. Prenatal, perinatal, and neonatal risk factors of autism spectrum disorder / E. Hisle-Gorman, A. Susi, T. Stokes [et al.] // *Pediatric research*. – 2018. – No. 2. – Pp. 190–198.
103. Keles, B. A systematic review: the influence of social media on depression, anxiety and psychological distress in adolescents / B. Keles, N. McCrae, A. Grealish // *International Journal of Adolescence and Youth*. – 2020. – Vol. 25, No. 1. – Pp. 79–93.
104. Liu, J. Role of neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: cellular mechanisms and therapeutic implications / J. Liu, F. Wang // *Frontiers in immunology*. – 2017. – Vol. 8. – Pp. 1005.
105. Łojko, D. Atypical depression: current perspectives / D. Łojko, J. K. Rybakowski // *Neuropsychiatric disease and treatment*. – 2017. – No. 13. – Pp. 2447–2456.
106. Ma, L. Depression, anxiety, and apathy in mild cognitive impairment: current perspectives / L. Ma // *Frontiers in aging neuroscience*. – 2020. – Vol. 12, No. 9. – Pp. 1–8.
107. Male specific alteration in excitatory postsynaptic development and social interaction in prenatal valproic acid exposure model of autism spectrum disorder / K. C. Kim, P. Kim, H. S. Kim [et al.] // *Journal of neurochemistry*. – 2013. – Vol. 124, No. 6. – Pp. 832–843.
108. 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.
109. N-(3-Фосфонопропил) замещенные α-аминокислоты и их фосфиноксидные аналоги / И. М. Аладжева, О. В. Быховская, П. В. Петровский [и др.] // *Известия Академии наук. Серия химическая*. – 2005. – № 11. – С. 2551–2556.
110. New psychoactive substances: a review and updates / A. Shafi, A. J. Berry, H. Sumnall [et al.] // *Therapeutic advances in psychopharmacology*. – 2020. – Vol. 10. – Pp. 1–21.

111. Nicolini, C. The valproic acid-induced rodent model of autism / C. Nicolini, M. Fahnestock // *Experimental neurology*. – 2018. – Vol. 299. – Pp. 217–227.
112. Nikitina, I. L. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant effect of 3-substituted thietane-1, 1-dioxide derivative / I. L. Nikitina, G. G. Gaisina // *Research Results in Pharmacology*. – 2022. – Vol. 8, No. 2. – Pp. 87–94.
113. Novel brain targeting prodrugs of naproxen based on dimethylamino group with various linkages / Q. Zhang, Z. Liang, L. Y. Chen [et al.] // *Arzneimittelforschung*. – 2012. – Vol. 62, No. 6. – Pp. 261–266.
114. Pharmacological treatment approaches to difficult-to-treat depression / H. N. Chan, P. B. Mitchell, C. K. Loo, S. B. Harvey // *Medical Journal of Australia*. – 2013. – Vol. 199. – Pp. 44–47.
115. Presence of severe neuroinflammation does not intensify neurofibrillary degeneration in human brain / W. J., Streit, Q. S. Xue, H. Braak, K. Del Tredici // *Glia*. – 2014. – Vol. 62, No. 1. – Pp. 96–105.
116. Reduction of inflammation in rats by diazepam: tolerance development / R. Lazzarini, B. E. Malucelli, M. N. Muscará [et al.] // *Life sciences*. – 2003. – Vol. 72, No. 21. – Pp. 2361–2368.
117. Russell, G. The human stress response / G. Russell, S. Lightman // *Nature reviews endocrinology*. – 2019. – Vol. 15, No. 9. – Pp. 525–534.
118. Schneider, T. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism / T. Schneider, R. Przewłocki // *Neuropsychopharmacology*. – 2005. – Vol. 30, No. 1. – Pp. 80–89.
119. 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.
120. Sex/gender differences and autism: Setting the scene for future research / M. C. Lai, M. V. Lombardo, B. Auyeung [et al.] // *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. – 2015. – Vol. 54, No. 1. – Pp. 11–24.

121. Siddiqui, N. Antibacterial activity of some 4-N-substituted thiosemicarbazides and thiosemicarbazones / N. Siddiqui, O. Singh // *Indian journal of pharmaceutical sciences.* – 2003. – Vol. 65, No. 4. – Pp. 423–425.
122. Stewart, J. W. Atypical depression: history and future / J. W. Stewart // *Psychiatric Annals.* – 2014. – Vol. 44, No. 12. – Pp. 557–562.
123. Synthesis and Antidepressant Activity of Thietane-Containing 4-(2-oxo-2-phenylethyl)-1 H-1, 2, 4-triazol-4-ium Bromides / F. A. Khaliullin, E. E. Klen, I. L. Nikitina [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* – 2023. – Vol. 56, No. 12. – Pp. 1596–1603.
124. Synthesis of some triazolylphenothiazine derivatives and their antidepressant and anxiolytic activities / G. Turan-Zitouni, D. M. Sıvacı, Z. A. Kaplancıklı, A. H. M. E. T. Özdemir // *Il Farmaco.* – 2002. – Vol. 57, No. 7. – Pp. 569–572.
125. Synthesis and Evaluation of Antioxidant Properties of Novel 1, 2, 4-Triazole-Based Schiff Base Heterocycles / C. Aswathanarayanappa, E. Bheemappa, Y. D. Bodke [et al.] // *Archiv der Pharmazie.* – 2013. – Vol. 346, No. 12. – Pp. 922–930.
126. Synthesis, characterization and in vitro cytotoxic properties of some new Schiff and Mannich bases in Hep G2 cells / D. Sunil, A. M. Isloor, P. Shetty [et al.] // *Medicinal Chemistry Research.* – 2011. – Vol. 20. – Pp. 1024–1032.
127. Synthesis, lipophilicity and biological evaluation of indole-containing derivatives of 1, 3, 4-thiadiazole and 1, 2, 4-triazole / A. Varvaresou, T. Siatra-Papastaikoudi, A. Tsotinis [et al.] // *Il Farmaco.* – 1998. – Vol. 53, No. 5. – Pp. 320–326.
128. Tanaka, M. Towards a mechanistic understanding of depression, anxiety, and their comorbidity: perspectives from cognitive neuroscience / M. Tanaka, C. Chen // *Frontiers in behavioral neuroscience.* – 2023. – Vol. 17. – Pp. 1–4.
129. The first nootropics among non-anticholinesterase compounds. Study of structure-neurotropic activity relationships of nitrogen-containing phosphorylacetic acid derivatives / R. Tarasova, I. Semina, O. Voskresenskaya [et al.] // *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements.* – 1996. – Vol. 109, No. 3. – Pp. 373–376.
130. Tiller, J. W. G. Depression and anxiety / J. W. G. Tiller // *The Medical Journal of Australia.* – 2013. – Vol. 199, No. 6. – Pp. 28–31.

131. Valproic acid exposure during early postnatal gliogenesis leads to autistic-like behaviors in rats / T. J. Mony, J. W. Lee, C. Dreyfus [et al.] // *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*. – 2016. – Vol. 14, No. 4. – Pp. 338–344.
132. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/ American Stroke Association / P. B. Gorelick, A. Scuteri, S. E. Black [et al.] // *Stroke*. – 2011. – Vol. 42, No. 9. – Pp. 2672–2713.
133. Vorhees, C. V. Morris water maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory / C. V. Vorhees, M. T. Williams // *Nature protocols*. – 2006. – Vol. 1, No.2 – Pp. 848–858.
134. Vulink, N. C. C. Review of atypical antipsychotics in anxiety / N. C. C. Vulink, M. Figeer, D. Denys // *European Neuropsychopharmacology*. – 2011. – Vol. 21, No. 6. – Pp. 429–449.
135. Walf, A. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents / A. A. Walf, C. A. Frye // *Nature protocols*. – 2007. – Vol. 2, No. 2. – Pp. 322–328.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Таблица 1 – Химические структуры новых производных фосфорилированных ацетогидразидов – солей арилфосфиновых кислот.....	25
Таблица 2 – Химические структуры фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот	25
Таблица 3 – Химические структуры фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2– триазол – 3– тионов	26
Рисунок 1 – Общий план - дизайн исследования	27
Рисунок 2 – Дизайн эксперимента.....	34
Рисунок 3 – Результаты компьютерного прогноза фармакологической активности солей арилфосфиновых кислот в программе PASS.....	39
Рисунок 4 – Результаты компьютерного прогнозирования фармакологических эффектов фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот в программе PASS	40
Рисунок 5 – Результаты компьютерного прогнозирования фармакологических эффектов производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,- триазол-3-тионов в программе PASS	41
Таблица 4 – Показатели острой токсичности N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот при внутрибрюшинном введении белым мышам	43
Таблица 5 – Показатели острой токсичности фосфорилированных производных муравьиной и уксусной кислот при внутрибрюшинном введении белым мышам.....	43
Таблица 6 – Показатели «острой токсичности фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов при внутрибрюшинном введении белым мышам	44
Таблица 7 – Показатели острой токсичности представителей трех новых рядов соединений при внутрибрюшинном введении крысам линии Wistar.....	44
Рисунок 6 – Влияние введения соединений на двигательную активность мышей в тесте «Открытое поле»... ..	46
Рисунок 7 – Влияние введения исследуемых соединений на исследовательскую активность мышей в тесте «Открытое поле».....	47

Рисунок 8 – Влияние введения N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».....	48
Рисунок 9 – Влияние введения N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Темно-светлая камера»	49
Рисунок 10 – Влияние введения фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»	50
Рисунок 11 – Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Темно-светлая камера».....	50
Рисунок 12 – Влияние введения фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Конфликтная ситуация с водной депривацией»	51
Рисунок 13 – Влияние введения производных тиосемикарбазидов на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».....	52
Рисунок 14 – Влияние введения производных тиосемикарбазидов на поведение мышей в тесте «Темно-светлая камера»	53
Рисунок 15 – Влияние введения N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние».....	54
Рисунок 16 – Влияние введения фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние».....	55
Рисунок 17 – Влияние введения производных тиосемикарбазидов на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние»	56
Рисунок 18 – Влияние производных N-замещённых аммонийных солей арилфосфиновых кислот и фосфорилированных производных тиосемикарбазидов на показатели обучаемости и памяти мышей в тесте «Т-образный лабиринт».....	57
Рисунок 19 – Влияние производных N-замещённых аммонийных солей арилфосфиновых кислот и фосфорилированных производных тиосемикарбазидов при 4-х дневном (А) и 14-ти дневном (Б) введении на показатели обучаемости и памяти крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса».....	58

- Рисунок 20 – Влияние однократного введения соединений В1, В2, В3, В15, В17, С5 диклофенака (Д), феназепама (ФНП) и мелипрамина (МП) на выраженность каррагенинового субплантарного отека у мышей 60
- Рисунок 21 – Влияние однократного и многократного введения соединений В15 и С5 на выраженность каррагенинового субплантарного отека у мышей, где А– показатели через 1, 2, 3 часа; Б – показатели через 4, 6 и 24 часа после введения каррагенина.....61
- Рисунок 22 – Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»..... 62
- Рисунок 23 – Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Закапывание шариков».....64
- Рисунок 24 – Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Открытое поле» расширенный..... 65

Приложение 1 – Влияние N-замещенных аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на двигательную-исследовательскую активность мышцей в тесте «Открытое поле»

Группы	Двигательная активность (кол-во пересечённых линий), M±SEM	Исследовательская активность (кол-во обследованных отверстий), M±SEM
Контроль В1 (n=7)	32±8,4	5,5±1,6
В1 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	38,4±6,4	11,4±2*
В1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	33,63±5,7	4,9±1,4
Контроль В2 (n=7)	43,5±4,4	10±1,1
В2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	53,9±5*	9±1,4
В2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	34,4±5,6	7±0,7*
Контроль В3 (n=7)	32±8,4	5,5±1,6
В3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	34,5±5,7	8,8±0,2*
В3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	43,1±7,3	6,2±1,4
Контроль В4 (n=7)	43,5±4,4	10±1,1
В4 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	33±5,1	17,4±4,2*
В4 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	21,5±5,2*	11,9±2,8
Контроль В14	54,4±10,2	11,4±3,5
В14 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	73,1±8,0	8,3±1,3
В14 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	86,2±8,9*	6,6±1
Контроль В15 (n=7)	50,2±7,5	15,5±1,2
В15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	54,4±7	13,4±0,7*
В15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	32,8±1,3*	11,3±1,6*
Контроль В16 (n=7)	54,4±10,2	11,4±3,5
В16 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	87,1±10,8	8,9±1,9
В16 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	88,8±10,4*	16±5,2
Контроль В17 (n=7)	54,4±10,2	11,4±2,5
В17 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	72,6±3,1*	8,2±0,59*
В17 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	59,2±4,5	8,0±1,81
Контроль В27 (n=7)	72,5±8,7	19,0±2,1
В27 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	65,2±10,0	18,2±1,5
В27 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	78,2±6,6	18,3±1,4
Контроль В28 (n=7)	72,5±8,7	19±2,1
В28 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	80,2±13,8	14,5±2,7
В28 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	86,3±7,0	15,3±3,3
Контроль В33 (n=7)	72,5±8,7	19±2,1
В33 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	57,7±5,4*	22,0±5,8

Продолжение приложения 1

Группы	Двигательная активность (кол-во пересечённых линий), M±SEM	Исследовательская активность (кол-во обследованных отверстий), M±SEM
В33 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	67,5±5,3	15,6±2,5
Контроль В34 (n=7)	68,0±12,8	7±2,78
В34 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	70,2±14,2	6,7±2
В34 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	89,5±17,6	6,8±1,8
Контроль АН15 (n=7)	104,6±14,0	10,9±1,2
АН15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	93,9±10,3	14,9±1,1*
АН15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	109,7±7,4	14,9±1,3*
Контроль В342 (n=7)	104±12,15	15,3±1,2
В342 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	104±12,5	17,4±2,3
В342 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	104,3±9,6	15,1±1,8
Контроль Фосеназид (n=7)	48±5,7	10,1±2,5
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	64,7±2,7*	14,6±2
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	62,2±7,6	13,9±1,9

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 2 – Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на двигательную-исследовательскую активность мышей в тесте «Открытое поле»

Группы	Двигательная активность (кол-во пересечённых линий), М±SEM	Исследовательская активность (кол-во обследованных отверстий), М±SEM
Контроль С1 (n=7)	45,0±5,0	21,0±3,7
С1 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	36,0±2,8	31,0±4,0*
С1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	35,0±3,9	26,0±3,0
Контроль С2 (n=7)	45,5±5	21,0±3,7
С2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	38,0±1,8	15,0±4,0
С2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	11,7±1,4*	23,0±5,0
Контроль С3 (n=7)	51,0±7	18,0±3,0
С3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	41,0±4	28,0±3,4*
С3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	54,0±5,9	27,0±2,4*
Контроль С5 (n=7)	45,0±2,0	21,0±3,7
С5 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	59,8±5,2*	14,0±1,3*
С5 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	43,3±1,9	13,0±1,8*
Контроль Фосеназид (n=7)	48,0±5,7	10,1±2,5
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	64,7±2,7*	14,6±2
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	62,2±7,6	13,9±1,9

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 3 – Влияние фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов на двигательную-исследовательскую активность мышей в тесте «Открытое поле»

Группы	Двигательная активность (кол-во пересечённых линий), М±SEM	Исследовательская активность (кол-во обследованных отверстий), М±SEM
Контроль Т6	39,9±7,6	13,4±2,7
Т6 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	45,3±7,6	17,1±1,9
Т6 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	57,0±9,9	15,1±0,6
Контроль Т7 (n=7)	93,6±11,1	16,4±2,8
Т7 1/100 от ЛД ₅₀ (n=7)	72,0±10,2	14,6±3,2
Т7 1/50 от ЛД ₅₀ (n=7)	68,4±2,8*	9,1±1,5*
Контроль Т8 (n=7)	57,0±10,5	10,1±1,5
Т8 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	77,0±8,0	15,4±1,9*
Т8 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	81,0±3,6*	15,1±1,5*
Контроль Т11 (n=8)	54,6±4,7	13,9±1,6
Т11 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	52,4±4,6	7,2±1,1
Т11 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	62,0±3,8	9,7±3,7
Контроль Т13 (n=8)	54,6±4,7	13,9±1,6
Т13 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	90,1±7,6*	23,4±1,7*
Т13 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	69,7±6,7	23,4±1,8*
Контроль Т37 (n=8)	54,6±4,7	13,9±1,6
Т37 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	103,0±8,0*	22,6±1,2*
Т37 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	92,9±10,2*	28,7±3,1*
Контроль Т38 (n=8)	72,9±5,5	11,6±1,7
Т38 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	57,3±4,8	20,7±2,7*
Т38 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	65,0±8,3	14,0±2,75
Контроль Т39 (n=8)	52,7±4,9	28,3±2,3
Т39 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	72,1±10,4	19,1±5,9
Т39 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	70,7±7,5*	28,1±3,5
Контроль Т42 (n=8)	72,9±5,5	11,6±1,3
Т42 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	33,0±4,6*	8,7±1,4
Т42 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	22,1±3,2*	3,6±1,0*
Контроль (Фосеназид; n=8)	48,0±5,7	10,1±2,5
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	64,7±2,7*	14,6±2,0
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	62,2±7,6	13,9±1,9

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 4 – Влияние аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновых кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Группы	Продолжительность нахождения в открытых рукавах, (с) M±SEM
Контроль В1 (n=8)	63,9±13,7
В1 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	66,6±14,0
В1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	65,1±18,0
Контроль В2 (n=8)	63,97±13,7
В2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	97,2±9,1*
В2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	74,8±13,0
Контроль В3 (n=8)	63,9±13,7
В3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	53,1±10,5
В3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	31,9±5,4
Контроль В4 (n=8)	49,8±11,8
В4 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	73,7±1,5*
В4 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	44,8±9,2
Контроль В14 (n=8)	49,8±11,8
В14 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	86,6±10,1*
В14 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	42,1±6,9
Контроль В15 (n=8)	38,8±16,1
В15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	85,4±18*
В15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	77,6±15,2*
Контроль В16 (n=8)	49,8±11,8
В16 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	112,7±22,0*
В16 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	69,8±15,6
Контроль В17 (n=8)	24,9±6,8
В17 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	59,7±8,8*
В17 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	50,7±7,3*
Контроль АН15 (n=8)	24,9±6,8
АН15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	22,1±4,6
АН15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	76,7±11,4*
Контроль В342 (n=8)	24,9±6,8
В342 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	62,5±12,2*
В342 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	70,7±8,9*
Контроль Феназепам (n=8)	57,1±12,0
Феназепам 1 мг/кг (n=8)	141,4±25,5*
Контроль Фосеназид (n=8)	28,8±9,0
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	40,3±10,1
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	41,7±5,5

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 5 – Влияние представителей трех рядов исследуемых соединений на поведение мышей в тесте «Тёмно-светлая камера»

Группы	Продолжительность нахождения в светлой камере, (с) M±SEM
Контроль В15 (n=8)	97,4±20,7
В15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	278,3±20,1*
В15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	248,3±23,3*
Контроль В17 (n=8)	97,4±20,7
В17 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	76,0±9,4
В17 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	79,9±3,1
Контроль В33 (n=8)	242,0±24,5
В33 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	221,9±9,0
В33 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	186,7±13,5
Контроль В35 (n=8)	242,0±24,5
В35 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	231,1±17,6
В35 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	233,3±20,3
Контроль С1 (n=8)	148,7±9,7
С1 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	184,0±12,6*
С1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	148,9±27,9
Контроль С2 (n=8)	148,7±9,74
С2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	154,7±25,2
С2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	151,7±12,4
Контроль С3 (n=8)	234,0±11,5
С3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	229,3±37,7
С3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	285,5±7,5*
Контроль С5 (n=8)	234,0±11,5
С5 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	299,5±0,5*
С5 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	250,8±8,1
Контроль Т6 (n=8)	219,3±21,8
Т6 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	191,0±15,3
Т6 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	209,6±16,8
Контроль Т7 (n=8)	219,3±21,8
Т7 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	225,0±13,0
Т7 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	244,4±17,2
Контроль Т8 (n=8)	219,3±21,8
Т8 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	294,9±3,3*
Т8 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	217,4±22,5
Контроль (Фосеназид; n=8)	234,0±11,5
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	215,2±51,2
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	220,2±61,7
Контроль (Феназепам; n=8)	227,1±14,5
Феназепам 1 мг/кг (n=8)	300±0*

Примечание: *($p < 0,05$) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 6 – Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Группы	Продолжительность нахождения в открытых рукавах, (с) M±SEM
Контроль (C1) n=8	14,1±4,4
C1 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	19,0±5,1
C1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	13,5±5,4
Контроль (C2) n=8	28,8±9,0
C2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	47,0±3,0*
C2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	39,1±7,0
Контроль C5 (n=8)	28,8±9,0
C5 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	40,7±9,1
C5 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	50,3±2,2*
Контроль Феназепам (n=8)	57,1±12,0
Феназепам 1 мг/кг (n=8)	141,4±25,5*
Контроль Фосеназид (n=8)	28,8±9,0
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	40,3±10,1
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	41,7±5,5

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 7 –Влияние фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Конфликтная ситуация с водной депривацией»

Группы	Кол-во взятий воды, M±SEM
Контроль (С2; n=8)	4,1±0,4
С2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	5,7±0,8
С2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	6,9±0,6*
Контроль (С5; n=8)	0,6±0,2
С5 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	1,7±0,3*
С5 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,4±0,2
Контроль Феназепам (n=8)	0,6±0,2
Феназепам 1 мг/кг (n=8)	2,3±0,4*
Контроль (n=8)	0,6±0,2
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,7±0,2
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,6±0,2

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 8 – Влияние фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол-3-тионов на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Группы	Продолжительность нахождения в открытых рукавах, (с) M±SEM
Контроль Т6	25,6±7,9
Т6 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	17,1±3,5
Т6 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	55,5±14,1
Контроль Т7 (n=8)	25,6±7,9
Т7 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	32,5±12,1
Т7 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	30,5±6,7
Контроль Т8 (n=8)	25,6±7,9
Т8 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	38,4±10,6
Т8 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	88,7±17,2*
Контроль Т13 (n=8)	57,0±10,5
Т13 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	42,1±5,3
Т13 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	64,1±8,7
Контроль Т37 (n=8)	57,0±10,5
Т37 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	81,0±2,8*
Т37 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	77,0±8,0*
Контроль Т39 (n=8)	35,7±14,89
Т39 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	59,7±8,7
Т39 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	80,7±5,7*
Контроль (Феназепам; n=8)	57,1±12,0
Феназепам (1 мг/кг; n=8)	141,4±25,5*
Контроль Фосеназид (n=8)	28,77±9,0
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	40,3±10,1
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	41,7±5,5

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 9 – Влияние аммонийных солей (2-этокси-2-оксоэтил)
арилфосфиновых кислот
на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние»

Группы	Продолжительность периодов замиранья, (с) M±SEM
Контроль В1 (n=8)	39,4±8,6
В1 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	51,6±9,7
В1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	46,1±8,4
Контроль В2 (n=8)	174,5±14,5
В2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	188,4±20,6
В2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	179,7±29,6
Контроль В3 (n=8)	174,5±14,5
В3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	124,5±18,22*
В3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	104,1±15,1*
Контроль В4 (n=8)	174,5±14,5
В4 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	229,6±16,6
В4 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	190,2±24,7
Контроль В14 (n=8)	169,6±43,8
В14 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	67,7±14,8*
В14 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	120,7±16,3
Контроль В16 (n=8)	169,6±43,7
В16 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	177,14±23,45
В16 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	105,4±30,5
Контроль В17 (n=8)	38,9±12,3
В17 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	84,6±25,1*
В17 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	90,4±23,7*
Контроль В27 (n=8)	178,3±29,6
В27 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	209,2±10,5
В27 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	72,2±30,9*
Контроль В35 (n=8)	178,3±29,6
В35 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	166,3±30,5
В35 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	105,2±10,3*
Контроль В342 (n=8)	178,3±29,6
В342 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	91,5±19,3*
В342 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	151,5±33,0
Мелипрамин 7 мг/кг (n=8)	147,3±26,0*
Мелипрамин Контроль (n=8)	221,0±35,0
КАПАХ 10 мг/кг (n=8)	145,4±14,3*
КАПАХ Контроль (n=8)	207,7±19,2
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	238,0±28,0
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	200,0±39,4
Контроль Фосеназид (n=8)	221,0±35,0

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 10 – Изучение влияния фосфорилированных производных уксусной и муравьиной кислот на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние»

Группы	Продолжительность периодов замирания, (с) M±SEM
Контроль (С2)	80,1±13,2
С2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	104±12,5
С2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	104,3±9,6
Контроль (С5)	65,4±33,3
С5 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	58,2±24,5
С5 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	56,4±21,5
Контроль Мелипрамин (n=8)	221,0±35,0
Мелипрамин 7 мг/кг (n=8)	147,3±26,0*
Контроль КАПАХ (n=8)	207,7±19,2
КАПАХ 10 мг/кг от ЛД ₅₀ (n=8)	145,4±14,3*
Контроль Фосеназид (n=8)	221,0±35,0
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	238,0±28,0
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	200,0±39,4

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 11 – Изучение влияния фосфорилированных производных тиосемикарбазидов и их циклических аналогов 1,2,-триазол -3-тионов на поведение мышей в тесте «Поведенческое отчаяние»

Группы	Продолжительность периодов замиранья, (с) M±SEM
Контроль Т8 (n=8)	162,7±24,1
Т8 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	139,9±37,9
Т8 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	70,1±14,5*
Контроль Т13 (n=8)	58,4±13,6
Т13 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	34,4±2,5*
Т13 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	85,2±22,5
Контроль Т37 (n=8)	105,6±26,4
Т37 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	143,3±23,3
Т37 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	167,4±20,05
Контроль Т39 (n=8)	58,4±13,6
Т39 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	128,7±30,5
Т39 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	175,4±16,6*
Контроль Мелипрамин (n=8)	221,0±35,0
Мелипрамин 7 мг/кг (n=8)	147,3±26,0*
Контроль КАПАХ (n=8)	207,7±19,2
КАПАХ 10 мг/кг от ЛД ₅₀ (n=8)	145,4±14,4*
Контроль Фосеназид (n=8)	221,0±35,0
Фосеназид 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	238,0±28,0
Фосеназид 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	200,0±39,4

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 12 – Влияние исследуемых соединений на показатели обучаемости и памяти мышей в тесте «Г- образный лабиринт»

Группы	Время подхода к кормушке, (с) M±SEM
C1 1/ 100 от ЛД ₅₀ (n=9)	15,7±3,1
C1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=9)	13,4±2,7
Контроль C1 (n=10)	11,9±1,5
B3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=9)	12,1±2,0
B3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=9)	16,1±2,4
Контроль B3 (n=10)	11,9±1,5
B4 1/100 от ЛД ₅₀ (n=9)	23,7±5,4
B4 1/50 от ЛД ₅₀ (n=9)	18,34±2,5
Контроль B4 (n=10)	18,1±2,8
АН15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=9)	5,9±1,7*
АН15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=9)	5,6±2,2*
Контроль АН 15 (n=10)	11,9±1,8
T8 1/100 от ЛД ₅₀ (n=9)	18,8±4,2
T8 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	4,2±0,9*
Контроль T8 (n=10)	18,1±2,8
T38 1/100 от ЛД ₅₀ (n=9)	14,1±1,9
T38 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	17,0±1,6
Контроль (T38) (n=10)	18,1±2,8
Контроль КАПАХ (n=10)	18,1±2,8
КАПАХ (10 мг/кг) (n=10)	8,68±2,7*
Контроль Пирацетам (n=10)	18,1±2,8
Пирацетам 100 мг/кг (n=10)	17,0±1,6
Контроль Мемантин (n=10)	18,1±2,8
Мемантин 10 мг/кг (n=10)	13,67±7

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 13 – Влияние однократного введения исследуемых соединений на показатели обучаемости и памяти крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса»

Группы	Время пребывания в правильном секторе, (с) М ± SEM	Скорость движения, (см/с) М ± SEM
Т8 1/100 от ЛД ₅₀ (n=10)	31,7±4,7*	21,9±1,2
Т8 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	25,7±3,4	19,8±0,9
Контроль Т8 (n=10)	17,8±4,3	18,7±0,7
АН15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=10)	13,0±2,1	23,5±3,9
АН15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	16,1±2,9	18,6±0,6
Контроль АН15 (n=10)	17,8±4,2	18,7±0,7
В3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=10)	18,2±4,2	20,6±2,1
В3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	28,2±2,3*	20,3±1,1
Контроль В3 (n=10)	17,8±4,3	18,7±0,7
КАПАХ (10 мг/кг) (n=10)	23,2±0,7*	20,5±2,1
Контроль (КАПАХ) (n=10)	17,8±4,3	19,8±0,9
Пирацетам 100 мг/кг (n=10)	20,9±2,8	18,7±0,7
Контроль Пирацетам (n=10)	17,8±4,3	19,9±2,1
Мемантин 1 мг/кг (n=10)	23,2±5,1	20,6±1,4
Контроль Мемантин (n=10)	17,8±4,3	18,7±0,7

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 14 – Влияние соединений на показатели обучаемости и памяти крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса» при 14-дневном введении

Группы	Время пребывания в правильном секторе, (с) M ± SEM	Скорость движения, (см/с) M ± SEM
T8 1/100 от ЛД ₅₀ (n=10)	72,0±8,7*	27,7±1,1
T8 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	40,9±8,7	28,9±3,1
Контроль T8 (n=10)	46,5±7,9	24,68±2,5
АН15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=10)	52,9±7,2	26,8±1,1
АН15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	43,7±2,7	26,8±1,9
Контроль АН15 (n=10)	46,5±7,9	24,68±2,5
В3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=10)	42,4±9,8	28,43±2,0
В3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=10)	69,5±6,1*	30,64±4,3
Контроль В3 (n=10)	46,5±7,9	24,68±2,5
КАПАХ (10 мг/кг; n=10)	82,8±10,2*	25,75±4,4
Контроль (КАПАХ)	46,5±7,9	19,1±2,2
Контроль (Пирацетам)	46,5±7,9	22,3±4,1
Пирацетам (100 мг/кг)	66,1±6,4*	17,5±4,9
Контроль (Мемантин)	46,5±7,9	23,1±3,4
Мемантин 10 мг/кг (n=8)	75,8±12,4*	19,7±2,8

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 15 – Влияние новых фосфорсодержащих соединений на интенсивность каррагенинового отёка лапы мышей при однократном введении

Группы	Кол-во вытесненной жидкости (мл) через					
	1 час, M±SEM	2 часа, M±SEM	3 часа, M±SEM	4 часа, M±SEM	6 часов, M±SEM	24 часа, M±SEM
Каррагенин (n=8)	0,107± 0,02	0,177± 0,046	0,161± 0,027	0,196± 0,022	0,159± 0,017	0,106± 0,019
B15 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,087± 0,022	0,147 ±0,026	0,089± 0,018*	0,076± 0,023*	0,077± 0,027*	0,007± 0,005*
B15 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,08± 0,022	0,094± 0,03	0,173± 0,036	0,079± 0,031*	0,043± 0,02*	0,024± 0,011*
C5 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,081± 0,018	0,091± 0,011	0,083± 0,025*	0,084± 0,021*	0,011± 0,009*	0,006± 0,005*
C5 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,074± 0,026	0,103± 0,027	0,116± 0,041	0,041± 0,018*	0,006± 0,004*	0,001± 0,001*
B1 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,138± 0,035	0,145± 0,046	0,163± 0,071			
B1 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,133± 0,044	0,113± 0,039	0,14± 0,052			
B2 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,087± 0,049	0,093± 0,032	0,11± 0,045			
B2 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,123± 0,032	0,107± 0,045	0,118± 0,038			
B3 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,073± 0,026	0,133± 0,032	0,13± 0,041			
B3 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,078± 0,026	0,137± 0,041	0,095± 0,029			
B17 1/100 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,125± 0,023	0,128± 0,024	0,107± 0,054			
B17 1/50 от ЛД ₅₀ (n=8)	0,145± 0,014	0,07± 0,032	0,058± 0,028*			
Диклофенак (8мг/кг; n=8)	0,101± 0,026	0,049± 0,022*	0,034± 0,021			
Мелипрамин (7мг/кг; n=8)	0,119± 0,046	0,101± 0,04*	0,067± 0,02			
Феназепам (1мг/кг; n=8)	0,149± 0,039	0,121± 0,031*	0,011± 0,002			

Примечание: *(p < 0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 16 – Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Группы	Продолжительность нахождения в открытых рукавах, (с) M±SEM	
	Самцы	Самки
Контроль (n=7)	85,3±11,9	39,1±9,2
ВМА (n=7)	29,4±12,7*	23,02±5,7*
ВМА +рисперидон (1 мг/кг) (n=7)	11,6±5,4 ** *	17,9±5,6
ВМА+ амитриптилин (4 мг/кг) (n=7)	76,3±14,9	48,9±12,6
ВМА+В2 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	66,0±32,9	41,2±15,7
ВМА+С5 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	62,3±17,3	53,6±9,1**
ВМА+Т8 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	130,4±43,1 **	111,3±36,6** #

Примечание: *(p <0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы;

** (p <0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям группы в ВМА;

(0,05 <p <0,1) – тенденция к достоверности по отношению к показателям контрольной группы

Приложение 17 – Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Закапывание шариков»

Группы	Кол-во закопанных шариков, М±SEM	
	Самцы	Самки
Контроль (n=7)	3,5±0,7	3,3±0,5
ВМА (n=7)	5,9±0,4*	6,3±0,7*
ВМА +рисперидон (1 мг/кг) (n=7)	2,9± 1,2**	4,8± 1,4**
ВМА +амитриптилин (4 мг/кг) (n=7)	1,6± 0,3**	3,9± 1,4**
ВМА+В2 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	3,9±0,4**	3,7±0,6 **
ВМА+С5 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	3,6±0,7 **	3,7±0,3 **
ВМА+Т8 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	4,7±0,6	4,3±0,3 **

Примечание: *(p <0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы;

** (p <0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям группы в ВМА

Приложение 18

Влияние 7-дневного введения соединений В2, Т8 и С5 на поведение самок и самцов крыс в ВМА в тесте «Открытое поле» расширенный

Группы	Продолжительность нахождения в центре, (с) M±SEM	
	Самцы	Самки
Контроль (n=7)	126,2±76,4	107,4±57,1
ВМА (n=7)	55,2±6,0*	26,7±7,6*
ВМА+В2 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	284,9±83,0** #	204,9±86,5
ВМА+С5 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	134,5±51,9	75,9±21,4
ВМА+Т8 (1/100 от ЛД ₅₀) (n=7)	351,2±98,4** #	104,3±54,7

Примечание: *(p <0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы;

** (p <0,05) – статистически значимые различия по отношению к показателям группы в ВМА;

(0,05 <p <0,1)– тенденция к достоверности по отношению к показателям контрольной группы