
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 615.214.22

АНКСИОЛИТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ НОВОГО РЯДА ПРОИЗВОДНЫХ ДИАЗЕПИНОБЕНЗИМИДАЗОЛА

**А.А. Спасов^{1,2}, Л.Н. Диваева³, Д.В. Мальцев^{1,2}, Т.А. Кузьменко³, А.С. Морковник³,
М.В. Мирошников¹, А.С. Таран¹, Е.А. Золотова¹**

¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии и биоинформатики;

²ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», лаборатория экспериментальной фармакологии;

³ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», научно-исследовательский институт
физической и органической химии

Проведено изучение анксиолитической активности нового ряда производных диазепинобензимидазола, имеющих в своей структуре две привилегированные подструктуры – диазепина и бензимидазола. По результатам проведенного исследования показано, что новый ряд соединений обладает анксиолитической активностью различной степени выраженности, что может свидетельствовать о высокой перспективности дальнейшего углубленного изучения нейропсихотропного потенциала новых соединений. Доказана анксиолитическая активность соединения под шифром ДАБ-19, превышающая показатели препарата сравнения диазепам.

Ключевые слова: диазепинобензимидазолы, ДАБ-19, анксиолитическая активность, миорелаксация.

DOI 10.19163/1994-9480-2018-3(67)-19-23

THE ANXIOLYTIC POTENTIAL OF A NEW SERIES OF DIAZEPINOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

**A.A. Spasov^{1,2}, L.N. Divaeva³, D.V. Mal'tsev^{1,2}, T.A. Kuzmenko³, A.S. Morkovnik³,
M.V. Miroshnikov¹, A.S. Taran¹, E.A. Zolotova¹**

¹FSBEI HE «Volograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation,
Department of Pharmacology and Bioinformatics;

²SBI «Volograd Medical Scientific Centre», Laboratory of Experimental Pharmacology;

³FSAI HE «South Federal University», Research Institute of Physical and Organic Chemistry

The article describes the study of anxiolytic activity of a new series of diazepinobenzimidazole derivatives having in their structure two preferential substructures – diazepam and benzimidazole. According to the results of the study, a new series of compounds has anxiolytic activity of varying severity, which may indicate a high prospect for further in-depth study of the neuropsychotropic potential of new compounds. The anxiolytic activity of the compound under the DAB-19 cipher, which is higher than the diazepam.

Key words: diazepinobenzimidazoles, DAB-19, anxiolytic activity, myorelaxation.

В настоящее время тревожные расстройства являются широко распространенной патологией [6]. К этиологическим триггерам возникновения этих заболеваний относятся как внешние (социальные), так и внутренние (генетические) факторы. Существующие в настоящее время препараты не отвечают всем требованиям, связанным с терапией тревожных расстройств. Многие препараты, помимо низкой эффективности, обладают выраженными побочными действиями – привыканием, вялостью, сонливостью и т.п. В настоящее время

активно ведется поиск новых веществ с противотревожной активностью и низким риском развития побочных эффектов среди производных многих классов соединений, действующих на различные звенья патологического процесса [3, 10]. Разрабатываются новые фармакологические подходы для решения сложной проблемы снижения патологической тревожности [9]. В ранее проведенном исследовании среди производных диазепинобензимидазола было обнаружено соединение под шифром ДАБ-19, являющееся производным

11-бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино-[1,2-а]бензимидазола [7], для которого была показана выраженная анксиолитическая активность в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» [2]. В связи с этим для подробного изучения и оценки анксиолитического потенциала новых веществ представляется интересным изучить антифобические свойства новых схожих по химической структуре с соединением ДАБ-19 производных 11-алкил- и 11-бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино-[1,2-а]бензимидазола,

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение анксиолитической активности нового ряда производных 11-алкил- и 11-бензил-2,3,4,5-тетрагидродиазепино-[1,2-а] бензимидазола.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на 120 половозрелых мышах самцах массой 18–23 г. Мыши содержались в условиях вивария с естественным световым режимом на стандартной диете лабораторных животных, без ограничения доступа к еде и воде (ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением Международных рекомендаций по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях [1]. Изучаемые вещества вводили перорально за 30 мин до начала теста. Группам контрольных животных вводили растворитель (дистиллированная вода), животным группы препарата сравнения – диазепам (Реланиум, «Польфа», Польша) в дозе 1 мг/кг, опытным группам вводили исследуемые вещества в дозах, эквимоллярных препарату сравнения (1 мг/кг).

Метод изучения анксиолитической активности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) [7] был основан на естественном предпочтении грызунами темных нор, а также на страхе нахождения на открытых площадках и падения с высоты. Животных помещали в приподнятый крестообразный лабиринт и в течение 5 мин регистрировали показатели: реактивность, латентное время выхода в светлый рукав (с), время нахождения в открытом рукаве (с), количество выходов в открытый рукав, количество выглядываний, количество свешиваний.

Дополнительное исследование анксиолитической активности проводилось в установке «Темная светлая камера» (ТСК) [4], в течение 5 мин регистрировали показатели: латентное время выхода из темного отсека (с), время, проведенное в светлом отсеке (с) и количество переходов между отсеками.

Исследование миорелаксирующего действия оценивалось в тестах «Актометр» [5] и «Вращающийся стержень» [8]. В установку «Актометр» животное помещалось на 5 мин, в течение которых регистрировалось количество совершенных двигательных актов (предварительно проводилось адаптирование животных к актометру для исключения ориентировочной компоненты двигательной активности). В тесте «Вращающийся стержень»

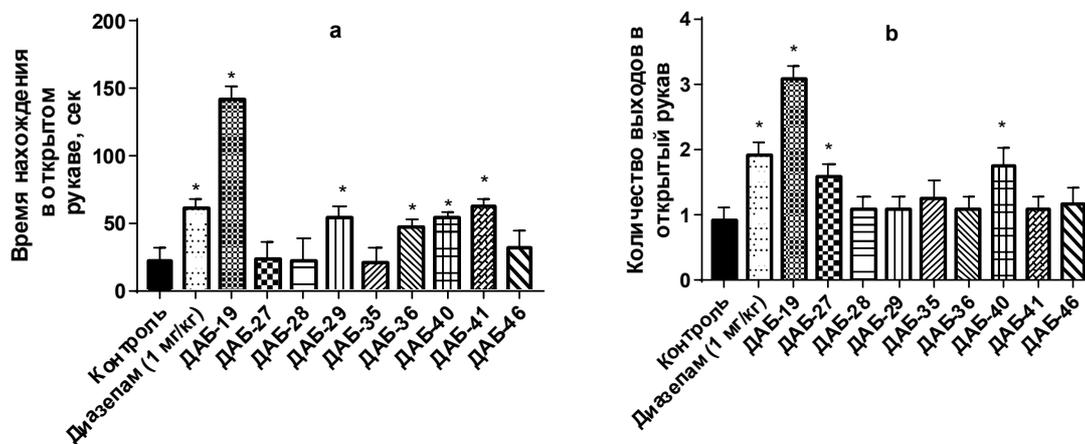
животное помещалось в установку на 30-секундный период (животные, перед началом исследования, проходили процедуру приучения).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась в программе GraphPad Prism 5.0 с использованием теста Вилкоксона, критерием Краскела-Уолиса с постобработкой тестом Данна.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

На скрининговой модели «Приподнятый крестообразный лабиринт» было изучено анксиолитическое действие 8 новых соединений. Так, по показателю времени, проведенному в открытом рукаве (рис. 1а), являющимся показателем противотревожного действия исследуемых соединений, было выяснено, что значения данного показателя для веществ ДАБ-27, ДАБ-28, ДАБ-35, ДАБ-46 достоверно не отличаются от показателей контрольной группы, это говорит о низком проявлении антифобического эффекта, либо отсутствии изучаемой активности в исследуемой дозировке.

Соединения ДАБ-29, ДАБ-36, ДАБ-40 показали результат, соответствующий данным препарата сравнения диазепам, что может свидетельствовать о снижении тревожности у животных. Соединения ДАБ-41 и ДАБ-19 превосходили показатель препарата сравнения в 1,2 и 2,4 раза соответственно, что говорит о высоком проявлении антифобического действия этих веществ. Сопоставляя полученные данные с показателями количества выходов в открытый рукав (рис. 1б), выяснили, что наибольшую противотревожную активность среди изучаемых соединений проявляет вещество ДАБ-19, превосходя показатели контрольной группы в 3 раза, а показатель препарата сравнения в 1,7 раз. Так как параметр количества выходов в открытый рукав является показателем исследовательской и антифобической активности, это значит, что соединение ДАБ-19, помимо противотревожного эффекта, проявляет и выраженную исследовательскую активность. Соединение ДАБ-41 не подтвердило свой анксиолитический потенциал и показало результат, соответствующий результату контрольной группы. Среди других исследуемых соединений статистически достоверный и коррелируемый результат при сопоставлении двух параметров показало вещество ДАБ-40, чей анксиолитический потенциал можно оценить как умеренный. Другие исследуемые соединения показали различный результат, не превышающий показания препарата сравнения диазепам. Так, соединение ДАБ-27 показало статистически достоверное увеличение количества выходов в открытый рукав в сравнении с контрольной группой, но сравнительно низкое время пребывания в открытом рукаве, что говорит о низком уровне противотревожного эффекта. Другое соединение, ДАБ-29, статистически превосходя контроль по времени нахождения в открытом рукаве, не подтвердил своей активности по количеству выходов в откры-



*Данные статистически достоверны по отношению к группе контроля ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с посттестом Данна).

Рис. 1. Влияние диазепама и соединений под шифром ДАБ на поведение мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»: а – влияние веществ на время нахождения животных в светлых рукавах; б – влияние веществ на количество выходов животных в светлые рукава

тые рукава установки, что также говорит о низком анксиолитическом эффекте соединения. Учитывая показатели реактивности животных и латентный период выхода в светлый рукав, также характеризующие антифобическую активность новых веществ, обнаружили, что полученные данные для вещества ДАБ-19 коррелируют с ранее проанализированными, к тому же уровень тревожности (показатели выглядываний, болюсов и количество/продолжительность груминга) был оценен как низкий, что говорит о высоком анксиолитическом потенциале соединения. Среди остальных исследуемых веществ по вышеизложенным параметрам также представляет интерес соединение ДАБ-40, но уступает ДАБ-19.

Большинство существующих на сегодняшний момент высокоэффективных анксиолитиков обладают миорелаксирующим действием и седацией, следовательно, целесообразно изучить противотревожную активность новых соединений в тестах «Актометр» и «Вращающийся стержень».

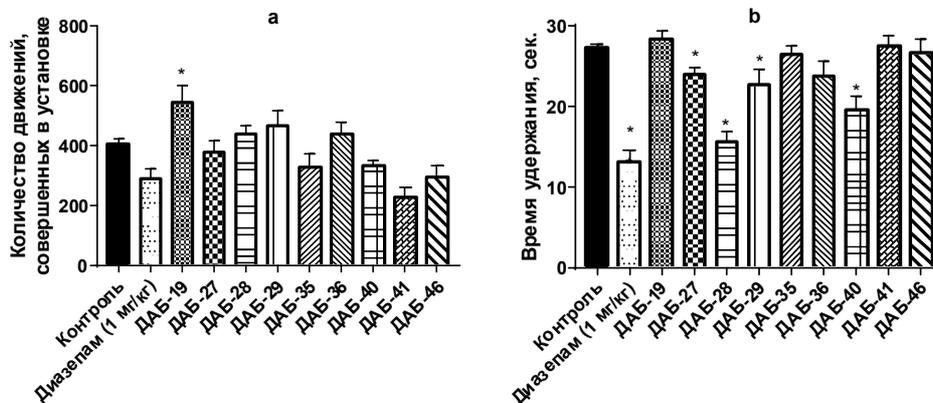
Так, по результатам экспериментов, проведенных в установке «Актометр» (рис. 2а) было показано, что изучаемая активность препарата сравнения диазепама существенно снижалась по сравнению с группой контроля и уступала практически всем исследуемым соединениям, кроме вещества ДАБ-41, под действием которого двигательная активность оказалась самой низкой среди представленных соединений, и тем самым подтвердилось отсутствие необходимости дальнейшего изучения анксиолитического потенциала данного вещества.

Соединения ДАБ-35 и ДАБ-40 показали результат, сопоставимый с результатом препарата сравнения, что говорит о развитии миорелаксирующего эффекта изучаемых веществ. Все остальные соединения показали результат, схожий с результатами контроля. Единственной опытной группой, статисти-

чески превосходящей контроль, является группа соединения ДАБ-19, показатель которой составил в среднем ($547,1 \pm 21,11$) двигательных актов против $406,3 \pm 6,32$ у контроля ($p \leq 0,05$), что говорит о повышении двигательной активности под действием вещества. Миорелаксирующий эффект соединения ДАБ-19 не подтвердился и в тесте «Вращающийся стержень» (рис. 2б), соединение показало результат контрольной группы.

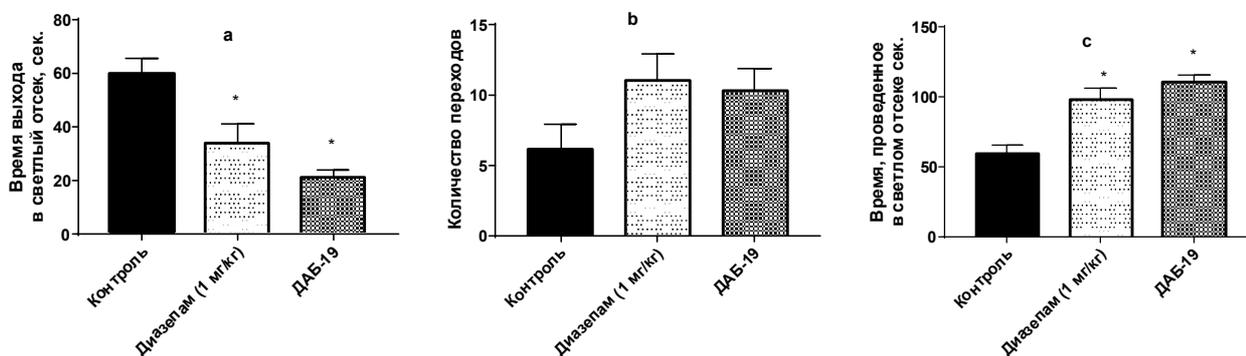
Таким образом, по полученным результатам, было установлено, что соединение ДАБ-19 превосходит как другие исследуемые соединения, так и препарат сравнения диазепам по ряду параметров, что может свидетельствовать о высоком анксиолитическом потенциале изучаемого соединения.

Для более углубленного изучения активности вещества ДАБ-19 был проведен дополнительный тест «Темная светлая камера». Так, под действием вещества ДАБ-19 наблюдалось достоверное снижение латентного периода выхода животных в светлый отсек (рис. 3а), что говорит о снижении тревожности животных. Так же было показано, что время выхода животных, получавших вещество ДАБ-19, снизилось по отношению к показателям контроля в 3 раза, а по отношению к показателям диазепама в 1,6 раза и составило в среднем ($21,2 \pm 3,05$) с против ($34,1 \pm 4,11$) с у препарата сравнения. Количество переходов (рис. 3б) соответствует уровню группы препарата сравнения, что соотносится с данными теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» о повышенном исследовательском интересе животных. Общее время, проведенное в светлом отсеке (рис. 3с), превосходило показатели диазепама в 1,2 раза. Полученные данные соответствуют показателям теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» и позволяют говорить о достоверном снижении уровня страха под действием вещества ДАБ-19.



*Данные статистически достоверны по отношению к группе контроля ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с посттестом Данна).

Рис. 2. Влияние диазепам и соединений под шифром ДАБ на миорелаксирующую активность в тестах «Актометр» и «Вращающийся стержень»: а – влияние диазепам и соединений под шифром ДАБ на количество движений, совершенных в установке «Актометр»; б – влияние диазепам и соединений под шифром ДАБ на время удержания животных в установке «Вращающийся стержень»



*Данные статистически достоверны по отношению к группе контроля ($p \leq 0,05$, критерий Краскелла-Уоллиса с посттестом Данна).

Рис. 3. Влияние диазепам и соединений под шифром ДАБ на поведение мышей в установке «Темная светлая камера»: а – влияние диазепам и соединений под шифром ДАБ на латентное время выхода животного в светлый отсек в тесте «Темная-светлая камера»; б – влияние диазепам и соединений под шифром ДАБ на количество переходов в тесте «Темная-светлая камера»; в – влияние диазепам и соединений под шифром ДАБ на время, проведенное в светлом отсеке в тесте «Темная-светлая камера»

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований анксиолитической активности нового ряда производных 11-алкил и 11-бензил-2,3,4,5- тетрагидродиазепино-[1,2-а] бензимидазола было обнаружено, что соединения обладают противотревожной активностью различной выраженности. По результатам теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» было обнаружено соединение-лидер под шифром ДАБ-19, превосходящее активность препарата сравнения диазепам, в дополнительном тесте «Темная светлая камера» противотревожная активность была также подтверждена рядом параметров. По результатам исследования миорелаксирующей активности в тестах «Актометр» и «Вращающийся стержень» было показано, что новые соединения в меньшей мере вызывают мышечное расслабление и снижение передвижения, по сравнению с диазепамом. Было установлено, что соединение ДАБ-19 не вызывает мышечного расслабления, а также

повышает двигательную активность животных. Таким образом, можно сделать вывод о высокой анксиолитической активности соединения ДАБ-19.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронина Т.А. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова. – 2012. – Ч. 1. – С. 264–275.
2. Диваева Л.Н., Спасов А.А., Кузьменко Т.А., Мальцев Д.В., Морковник А.С., Таран А.С., Петров В.И. Гидробромид 11-(4-трет-бутилбензил)-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazepино[1,2a]бензимидазола, обладающий анксиолитической и противосудорожной активностью // Патент России № 2662242. – 2017.
3. Жуковская О.Н. и др. Поиск фармакологически активных соединений 2-диалкиламинобензимидазолов // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т. 51, № 3. – С. 20–24.
4. Золотова Е.А. и др. Изучение анксиолитической активности соединения Б-19 в тесте темно-светлая

камера // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 75-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ с международным участием. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2017. – С. 440.

5. Иежица И.Н. и др. Токсическое влияние броманта на неврологический статус животных при однократном введении // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 4. – С. 438–441.

6. Лебедев А.А. и др. Антагонист рецепторов кортиколиберина атрессин снимает тревожно-фобические состояния у крыс, выращенных в социальной изоляции // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2016. – Т. 14, № 4.

7. Таран А.С. и др. Изучение анксиолитической активности в ряду новых производных диазепинобензимидазола на установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2017. – № 1 (53).

8. Тюренков И. Н. и др. Сравнительная церебропротективная активность метформина, глосглиптина, цитиколина и нового агониста GPR119 при экспериментальной ишемии головного мозга на фоне сахарного диабета // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117. – № 12–2. – С. 53–59.

9. Яковлев Д.С. и др. 5-HT_{2A}-антагонистическая активность С₂, N₉-дизамещенных имидазо[1,2-а] бензимидазолов // Сборник трудов научно-практической конференции профессорско-преподавательского коллектива, посвященной 80-летию Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – С. 54–56.

10. Suarez-Santiago J. E. et al. Agonist E-6837 and antagonist SB-271046 of 5-HT₆ receptors both reverse the depressive-like effect induced in mice by subchronic ketamine administration // Behavioural pharmacology. – 2017. – Vol. 28, № 7. – P. 582–585.

REFERENCES

1. Voronina T.A. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv [Guide to conducting preclinical studies of medicines]. In A.N. Mironov (ed.). 2012. P. 1. P. 264–275.

2. Divaeva L.N., Spasov A.A., Kuz'menko T.A., Mal'cev D.V., Morkovnik A.S., Taran A.S., Petrov V.I. Gidrobromid 11-(4-tret-butylbenzil)-2,3,4,5-tetragidro[1,3]diazepino [1,2a]benzimidazola, obladayushchij anksioliticheskoj i protivosudorozhnoj aktivnost'yu [11-(4-tert-butylbenzyl)-2,3,4,5-tetrahydro [1,3] diazepino [1,2a] benzimidazole hydrobromide, which has anxiolytic and anticonvulsant activity]. Patent Rossii № 2662242. 2017.

3. Zhukovskaya O.N. i dr. Poisk farmakologicheskij aktivnykh soedinenij 2-dialkilaminobenzimidazolov [Search for pharmacologically active compounds of 2-dialkylaminobenzimidazoles]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal* [Chemical-Pharmaceutical Journal], 2017, Vol. 51, no. 3, pp. 20–24. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Zolotova E.A. et al. Izuchenie anksioliticheskoj aktivnosti soedineniya B-19 v teste temno-svetlaja kamera

[Study of the anxiolytic activity of compound B-19 in the dark-light chamber test]. In Aktual'nye problemy ehksperimental'noj i klinicheskoy mediciny: materialy 75-j otkrytoj nauchno-prakticheskoy konferencii molodyh uchenyh i studentov VolgSMU s mezhdunarodnym uchastiem [Actual problems of experimental and clinical medicine: materials of the 75th open scientific and practical conference of young scientists and students of VolgSMU with international participation]. Volgograd: Izd-vo VolgSMU, 2017. P. 440.

5. Iezhica I.N. i dr. Toksicheskoe vliyanie bromantana na neurologicheskij status zhivotnyh pri odnokratnom vvedenii [The toxic effect of bromantane on the neurological status of animals in a single injection]. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine], 2002, Vol. 133, no. 4, pp. 438–441. (In Russ.; abstr. in Engl.).

6. Lebedev A.A. et al. Antagonist receptorov kortikoliberina atressin snimaet trevozhno-fobicheskie sostoyaniya u krys, vyrashchennyh v social'noj izolyacii [The antagonist of the corticoliberin receptor atressin relieves anxious-phobic conditions in rats grown in social isolation]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii* [Reviews on clinical pharmacology and drug therapy], 2016, Vol. 14, no. 4. (In Russ.; abstr. in Engl.).

7. Taran A.S. et al. Izuchenie anksioliticheskoj aktivnosti v ryadu novyh proizvodnyh diazepinobenzimidazola na ustanovke «Priподnyatj krestooobraznyj labirint» [A study of anxiolytic activity among a number of new diazepinobenzimidazole derivatives on the «Elevated cross-shaped labyrinth» facility]. *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal* [Volgograd Medical Journal], 2017, no. 1 (53). (In Russ.; abstr. in Engl.).

8. Tyurenkov I. N. i dr. Sravnitel'naya cerebroprotektivnaya aktivnost' metformina, gosogliptina, citicolina i novogo agonista GPR119 pri ehksperimental'noj ishemii golovnogogo mozga na fone saharnogo diabeta [Comparative cerebroprotective activity of metformin, gosogliptin, citicoline, and a new agonist GPR119 in experimental cerebral ischemia against diabetes mellitus]. *Zhurnal nevrologii i psihiatrii im. S.S. Korsakova* [Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov], 2017, Vol. 117, no. 12–2, pp. 53–59. (In Russ.; abstr. in Engl.).

9. Yakovlev D.S. i dr. 5-HT_{2A}-antagonisticheskaya aktivnost' S₂, N₉-dizameshchennyh imidazo[1,2-a] benzimidazolov [5-HT_{2A}-antagonistic activity of C₂, N₉-disubstituted imidazo [1,2-a] benzimidazoles] In Sbornik trudov nauchno-prakticheskoy konferencii professorsko-prepodavatel'skogo kolektiva, posvyashchennoj 80-letiyu Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta [Proceedings of the scientific-practical conference of the teaching staff dedicated to the 80th anniversary of the Volgograd State Medical University]. 2015. P. 54–56.

10. Suarez-Santiago J. E. et al. Agonist E-6837 and antagonist SB-271046 of 5-HT₆ receptors both reverse the depressive-like effect induced in mice by subchronic ketamine administration. *Behavioural pharmacology*, 2017, Vol. 28, no. 7, pp. 582–585.

Контактная информация

Мирошников Михаил Владимирович – аспирант кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: mihailmiroshnikov@mail.ru