

АНКСИОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЯ РУ-31

**К.Т. Султанова¹, Д.С. Яковлев^{1,2}, Д.В. Мальцев^{1,2}, М.В. Мирошников¹, Я.В. Морковина^{1,2},
В.А. Анисимова³, А.С. Морковник³**

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, лаборатория органического синтеза

С учетом известного участия серотониновых рецепторов в патогенезе развития различных тревожных расстройств и ранее установленной способности соединения азольного ряда РУ-31 к ингибированию 5-HT_{2A}-подтипа этих рецепторов высказано предположение о возможном влиянии этого соединения на поведенческую активность. В исследовании проведено изучение поведенческой активности животных под действием соединения РУ-31 в тесте «Открытое поле» и изучен анксиолитический профиль данного соединения в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Наказуемого взятия воды по Vogel». По результатам проведенного исследования можно говорить о способности соединения РУ-31 снижать чувство тревоги и страха.

Ключевые слова: 5-HT_{2A}-антагонисты, анксиолитическое действие.

DOI 10.19163/1994-9480-2018-3(67)-28-32

ANXIOLYTICAL PROPERTIES OF COMPOUND RU-31

**K.T. Sultanova¹, D.S. Yakovlev^{1,2}, D.V. Maltsev^{1,2}, M.V. Miroshnikov¹, Y.V. Morkovina^{1,2},
V.A. Anisimova³, A.S. Morkovnik³**

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

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

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

Based on the known participation of serotonin receptors in the pathogenesis of the development of various anxiety disorders and the previously established ability of the compound of the azole series of RU-31 to inhibit the 5-HT_{2A}-subtype of these receptors, it suggested that this compound might influence the behavioral activity. The study conducted the behavioral activity of animals under the action of RU-31 compound in the «Open field» test and studied the anxiolytic profile of this compound in the tests «Elevated plus maze», «The punishable taking of water by Vogel». According to the results of the study, we can talk about the ability of the RU-31 compound to reduce feelings of anxiety and fear.

Key words: 5-HT_{2A}-antagonists, anxiolytic action.

В ранее проведенных исследованиях был показан 5-HT_{2A}-антагонистический механизм действия соединения РУ-31, которое представляет собой производное 1-(2-диэтиламиноэтил)-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2-а]бензимидазола (ФГАУ ВО «Южный федеральный университет», Россия) [5], на моделях серотонинового спазма *in vivo* и выявлена средняя эффективная доза [2–4]. Известно, что серотониновые рецепторы задействованы в регуляции психоэмоционального состояния, в том числе в развитии чувства страха и тревоги [6–10]. Кроме того, имеются данные о способности соединения РУ-31 уменьшать пикротоксин-индуцированные эффекты (увеличение времени возникновения тремора и судорог и снижение количества судорожных припадков). С учетом того, что пикротоксин является антагонистом ГАМК-рецепторов, это может свидетельствовать о наличии ГАМК-миметического действия у соединения РУ-31. Таким образом, является целесообразным более детальное изучение

влияния соединения РУ-31 на поведенческую активность животных в условиях анксиогенеза.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение поведенческой активности животных в тесте «Открытое поле» и анксиолитического профиля соединений в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Наказуемого взятия воды по Vogel» [1].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследуемые вещества: соединение РУ-31, ципрогептадин (Sigma, США), диазепам (сибазон) (ФГУП Московский эндокринный завод, Россия). В ходе эксперимента использовались половозрелые беспородные крысы-самцы (Питомник лабораторных животных ООО «НПК БиоТех», Московская область). Приборное оснащение: приподнятый крестообразный лабиринт (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), установка «Наказуемое взятие воды» (ООО «НПК Открытая Наука»,

Россия), установка «Открытое поле» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), электронные весы (Ohauscorporation, США), аквадистиллятор ДЭ-4-2 (ЗАО «Электромедоборудование», Россия).

Исследование поведенческой активности под влиянием соединения РУ-31 и ципрогептадина в тесте «Открытое поле» проводилось для изучения общей поведенческой активности соединения РУ-31 в сравнении препаратом аналогичного механизма действия – ципрогептадином и производилось на белых беспородных крысах-самцах в количестве 24 особей, из которых были сформированы группы по 8 особей в каждой – контрольная и группы для изучаемых веществ (для соединения РУ-31, ципрогептадина). Соединения изучались в следующих дозах: соединение РУ-31 – 10 мг/кг, ципрогептадин – 14 мг/кг (ранее выявленные дозы основного 5-HT_{2A}-антагонистического действия на моделях серотонинового спазма *in vivo*). Изучаемые соединения вводились интрагастрально с последующей одночасовой инкубацией, после чего животное помещалось в экспериментальную установку, которая представляла собой круглую арену диаметром 97 см, высотой стенок 42 см, с 12 отверстиями в полу диаметром 2 см с фиксацией изучаемых параметров (латентное время выхода из центра (с), горизонтальная двигательная активность, вертикальная двигательная активность, поисковая активность, количество выходов в центр, груминг, болюсы). Время наблюдения одного животного составляло 5 мин.

Исследование анксиолитической активности соединения РУ-31 и ципрогептадина в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» являлось следующим этапом, необходимым для более детального изучения анксиолитических свойств соединения РУ-31 и ципрогептадина по отношению к препарату сравнения диазепаму. Исследование проводилось на белых беспородных крысах-самцах в количестве 32 особей, из которых были сформированы группы по 8 особей в каждой – контрольная и группы для изучаемых веществ (в дозе 10 мг/кг для соединения РУ-31, 14 мг/кг для ципрогептадина, 1 мг/кг для диазепама – доза, рекомендованная для максимального проявления анксиолитического эффекта). Изучаемые соединения вводились интрагастрально с последующей одночасовой инкубацией, после чего животное помещалось в установку «приподнятый крестообразный лабиринт». После помещения животного в установку проводилось наблюдение за поведением крысы в течение 3 мин с регистрацией соответствующих показателей (латентный период до выхода в открытый рукав (с); количество выходов в открытый рукав; суммарное время, проведенное в открытых рукавах лабиринта (с); общее число переходов из рукава в рукав (с указанием переходов типов рукавов темный/темный; темный/светлый; светлый/светлый); количества свешиваний; реактивность, время ухода из центра (с); общее время нахождения в

центре (с); количество выглядываний из закрытого рукава; количество болюсов).

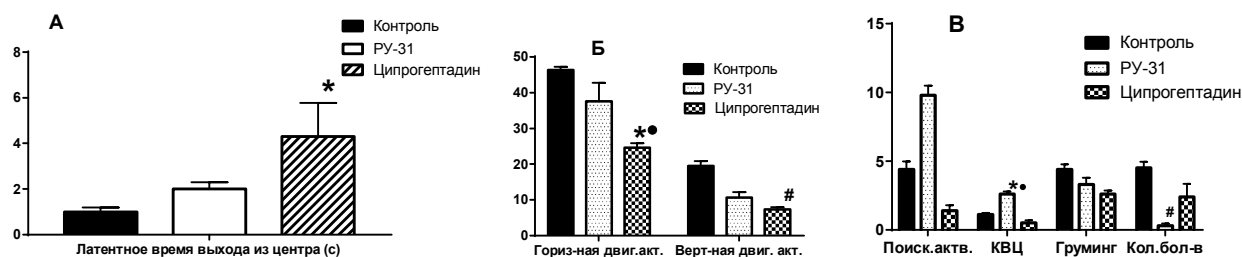
Исследование анксиолитической активности соединения РУ-31 и ципрогептадина по отношению к действию препарата сравнения диазепаму в тесте «наказуемого взятия воды» по Vogel проводилось на белых беспородных крысах-самцах в количестве 32 особей, из которых были сформированы группы по 8 особей в каждой – контрольная и группы для изучаемых веществ (в дозе 10 мг/кг для соединения РУ-31, 14 мг/кг для ципрогептадина, 1 мг/кг для диазепама). За 72 ч до начала эксперимента животные лишались доступа к воде, при этом доступ к еде оставался свободным. Через 48 ч, для формирования условного рефлекса, каждая крыса на 5 мин помещалась в установку для проведения, которая представляла камеру размером 275 × 275 × 450 мм, электродный пол и поилку с водой, расположенную на высоте 5 см от пола. Животное должно отыскать поилку и начать пить, после чего изымалось из прибора. После этого крыса вновь ограничивалась в воде на оставшееся время до экспериментального исследования. Изучаемые соединения вводились интрагастрально с последующей одночасовой инкубацией. Крысы помещались в установку, при этом к поилке подключался электрический ток напряжением 50V, как только животное отыскивало поилку и начинало пить, крыса получала короткий удар током. Аналогично происходило при каждом следующем подходе к поилке. Регистрация фиксируемых показателей (время первого подхода к поилке, после первого получения болевого раздражения (с); число подходов к поилке (включая первый) производилась в течение 5 мин.

Для статистической обработки полученных данных использовалась программа GraphPad Prism v.5.0

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте «Открытое поле» после интрагастрального введения ципрогептадина отмечалось снижение показателей двигательной и поисковой активности. Так, горизонтальная двигательная активность составила 54,1 % от значения контрольной группы животных, вертикальная двигательная активность снизилась на 62 %, количество заглядываний в норки (поисковая активность) уменьшилось практически в 3 раза. О седативном действии ципрогептадина также свидетельствует увеличение времени принятия животным решения о целенаправленном движении (латентное время выхода из центра) более чем в 4 раза (рис. 1). После введения соединения РУ-31 в дозе 10 мг/кг достоверно увеличивалось латентное время выхода из центра в 2 раза, при этом двигательная активность животных статистически не снижалась, а количество выходов в центр возрастало.

Полученные данные косвенно свидетельствуют о снижении чувства тревоги и страха у животных и наличии анксиолитических свойств, которые целесообразно более детально изучить в условиях ненаказуемого по-



*Статистически значимо по отношению к контролю, при параметрическом распределении, однофакторный дисперсионный анализ с посттестом Бонферрони ($p < 0,05$); • статистически значимо по отношению к соединению РУ-31, при параметрическом распределении, однофакторный дисперсионный анализ с посттестом Бонферрони ($p < 0,05$); #статистически значимо по отношению к контролю, при непараметрическом распределении, тест Краскелла-Уолесса с посттестом Данна ($p < 0,05$); КВЦ – количество выходов в центр.

Рис. 1. Влияние соединения РУ-31 и ципрогептадина на поведение крыс в тесте «Открытое поле» ($M \pm m$):

- А) Влияние соединения РУ-31 и ципрогептадина на латентное время выхода из центра (с) крыс в тесте «Открытое поле»; Б) влияние соединения РУ-31 и ципрогептадина на двигательную активность крыс в тесте «Открытое поле»; В) Влияние соединения РУ-31 и ципрогептадина на антифобическое поведение крыс в тесте «Открытое поле»

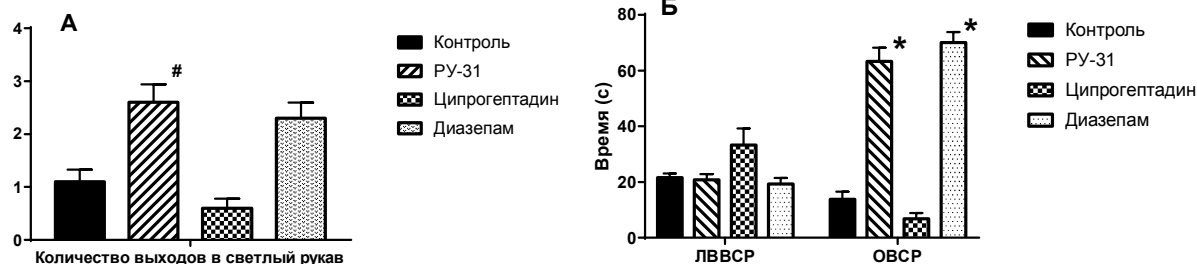
ведения крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» и на конфликтной модели поведения животных в тесте «Наказуемого взятия воды по Vogel».

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» исследуется поведение животных в условиях естественного страха животных перед открытыми освещенными участками и падением с высоты. Так, животные контрольной группы практически не выходили более одного раза в открытый рукав (рис. 2), а время пребывания в нем составляло не более 8 % от всего периода наблюдения. У крыс, получавших диазепам, повышалось количество выходов в светлый рукав более чем в 2 раза, а также время пребывания в нем в 5 раз. Поведение животных после введения соединения РУ-31 также претерпевало изменение, как и в случае с диазепамом, основные показатели, отображающие противотревожное действие, имели статистически значимое различие в сравнении с показателями контрольной груп-

пы. Так, в 2 раза повышалось количество выходов в светлый рукав, а время пребывания в нем превышало контрольное значение в 4,6 раза.

Пероральное введение ципрогептадина приводило к общему снижению поведенческой активности крыс, тем не менее, статистические различия получены по показателям количества выглядываний (снижались в 11 раз) и реактивности (возрастала в 12 раз) грызунов.

Методика конфликтной ситуации по Vogel основана на создании у животных состояния беспокойства, тревоги и страха с использованием наказующего раздражителя, подавляющего проявления условного и безусловного поведения (табл.). Животные контрольной группы, после получения удара электрическим током после первого подхода к поилке, в течение наблюдаемого периода, больше не совершали попыток утолить жажду, в связи с чем время первого подхода к поилке (после первого использования наказующего раздра-



*Статистически значимо по отношению к контролю, при параметрическом распределении, однофакторный дисперсионный анализ с посттестом Бонферрони ($p < 0,05$); #статистически значимо по отношению к контролю, при непараметрическом распределении, тест Краскелла-Уолесса с посттестом Данна ($p < 0,05$). ЛВВСП – латентное время до выхода в светлый рукав. ОВСП – общее время в светлом рукаве.

Рис. 2. Влияние соединения РУ-31, ципрогептадина и диазепам на поведение крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ($M \pm m$): А) Влияние соединения РУ-31, ципрогептадина и диазепам на количество выходов в светлый рукав крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»;

Б) влияние соединения РУ-31, ципрогептадина и диазепам (латентное время) до выхода в светлый рукав и общее время нахождения в светлом рукаве крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

жителя) составляло весь период наблюдения. Только 12 % от общего числа протестированных животных, получавших ципрогептадин в дозе 14 мг/кг, совершали повторный подход к поилке после получения удара электрическим током. Диазепам через 60 мин после использования в дозе 1 мг/кг приводил к снижению страха у крыс перед наказанием, практически в 3 раза, увеличивая общее количество попыток утолить жажду. Время подхода после первого наказания составляло, в среднем, менее 30 с. Введение соединения РУ-31 в дозе 10 мг/кг оказывало сходный с диазепамом антифобический эффект, в 3,5 раза повышая количество подходов к поилке. Время первого подхода к поилке после использования раздражителя несколько уступало результату, полученному в группе диазепама, однако статистической значимости не имело.

Влияние соединения РУ-31 и ципрогептадина на поведение крыс в тесте «Конфликтной ситуации по Vogel» ($M \pm m$)

Группы	Время первого подхода к поилке, с	Число подходов к поилке
Вода дистиллированная	300,00 ± 0,01	1,00 ± 0,01
Диазепам	28,6 ± 1,8 ^x	2,80 ± 0,25*
Ципрогептадин	271,80 ± 28,25	1,10 ± 0,13
Соединение РУ-31	34,5 ± 1,5 ^x	3,50 ± 0,19*

*Статистически значимо по отношению к контролю, при параметрическом распределении, однофакторный дисперсионный анализ с посттестом Бонферрони ($p < 0,05$); ^xстатистически значимо по отношению к контролю, при непараметрическом распределении, тест Краскелла-Уолесса с посттестом Данна ($p < 0,05$).

Полученные результаты согласуются с блоком изучения анксиолитической активности соединения РУ-31 и свидетельствуют о наличии у изучаемого соединения противотревожной активности, которая более детально характеризуется тестами «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Наказуемого взятия воды по Vogel» с использованием препарата сравнения диазепам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам проведенного исследования, можно говорить о способности соединения РУ-31 снижать чувство тревоги и страха в тестах, использующих как конфликтную модель поведения животного, так и в условиях ненаказуемого поведения крыс. По уровню проявляемого эффекта соединение РУ-31 в дозе 10 мг/кг проявляло анксиолитическое действие на уровне препарата с транквилизирующим действием – диазепама в дозе 1 мг/кг. После введения ципрогептадина антифобического действия не отмечалось. В результате исследования установлено, что соединение РУ-31 в средней эффективной дозе, оказывающей противомигренозный эффект, не вызывает вы-

раженных изменений двигательной активности животных. Незначительное увеличение поисковой активности, количества выходов в центр и времени выхода из центра согласуются с результатами изучения анксиолитической активности соединения РУ-31, позволяя говорить о наличии у него противотревожной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронина Т.А., Середенин С.Б., Яркова М.А. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: под ред. А.Н. Миронова. – Ч.1. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 264–275.
2. Морковина Я.В. и др. Метод фармацевтической альтернативы при разработке нового 5-НТ2А-антагониста // Фармация и фармакология. – 2015. – Т. 3, Прил. 1.
3. Спасов А.А. и др. Производные имидазо [1, 2-а] бензимидазола как антагонисты 5-НТ2-рецепторов // Биоорганическая химия. – 2016. – Т. 42. – № 4. – С. 440-440.
4. Спасов А.А., Яковлев Д.С. 5-НТ3-рецепторы-мишень для воздействия биологически активных соединений (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. – 2013. – Т. 47, № 8. – С. 3–8.
5. Спасов А.А., Анисимова В.А., Яковлев Д.С., и др. Средства, проявляющие свойства антагонистов серотониновых 5-НТ_{2А}-рецепторов // Патент России № 2465901. 2012. Бюл. изобретений № 23.
6. 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).
7. Яковлев Д.С. и др. 5-НТ2А-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.
8. Clinard C.T. et al. Activation of 5-HT2a receptors in the basolateral amygdala promotes defeat-induced anxiety and the acquisition of conditioned defeat in Syrian hamsters // Neuropharmacology. – 2015. – Vol. 90. – P. 102–112.
9. Maltsev D.V. et al. P. 4. c. 002 Anxiolytic action of a new 5-HT2A antagonist RU-476 // European neuropsychopharmacology. – 2013. – Vol. 23. – P. 519–520.
10. Piszczek L. et al. Modulation of anxiety by cortical serotonin 1A receptors // Frontiers in behavioral neuroscience. – 2015. – Т. 9. – С. 48.

REFERENCES

1. Voronina T.A., Seredenin S.B., Yarkova M.A. i dr. Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniyu trankviliziruyushchego (anksioliticheskogo) dejstviya lekarstvennyh sredstv [Methodical recommendations on preclinical study of tranquilizing (anxiolytic) action of drugs]. In Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv, A.N. Mironov (ed.) [Guide to the conduct of preclinical studies of medicine]. P.1. Moscow: Grif i K, 2012. P. 264–275.

2. Morkovina YA.V. i dr. Metod farmacevticheskoy al'ternativy pri razrabotke novogo 5-NT2A-antagonista [Pharmaceutical Alternative Method for the Development of a New 5-HT_{2A} Antagonist]. *Farmaciya i farmakologiya* [Pharmacy and Pharmacology], 2015, Vol. 3, Appl. 1. (In Russ.; abstr. in Engl.).

3. Spasov A.A. i dr. Proizvodnye imidazo [1, 2-a] benzimidazola kak antagonisty 5-NT2-receptorov [The imidazo [1, 2-a] benzimidazole derivatives as 5-HT2 receptor antagonists]. *Bioorganicheskaya himiya* [Bioorganic Chemistry], 2016, Vol. 42, no. 4, pp. 440-440. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Spasov A.A., YAKovlev D.S. 5-HT3-receptory-mishen' dlya vozdeystviya biologicheski aktivnyh soedinenij (obzor) [5-HT3-receptor target for the action of biologically active compounds (review)]. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal* [Chemical-Pharmaceutical Journal], 2013, Vol. 47, no. 8, pp. 3–8. (In Russ.; abstr. in Engl.).

5. Spasov A.A., Anisimova V.A., YAKovlev D.S., i dr. Sredstva, proyavlyayushchie svoystva antagonistov serotoninovyh 5-NT2A-receptorov [Means showing the properties of antagonists of serotonin 5-HT2A receptors]. Patent Rossii № 2465901. 2012. Byul. izobretenij № 23.

6. Taran A.S. et al. Izuchenie anksioliticheskoy aktivnosti v ryadu novyh proizvodnyh diazepinobenzimidazola na ustanovke «Pripodnyatyj krestobraznyj labirint» [A study of

anxiolytic activity among a number of new diazepinobenzimidazole derivatives on the «Elevated cross-shaped labyrinth» facility]. *Volgogradskij nauchno-meditsinskij zhurnal* [Volgograd Medical Journal], 2017, no. 1 (53). (In Russ.; abstr. in Engl.).

7. YAKovlev D.S. i dr. 5-HT2A-antagonisticheskaya aktivnost' S2, N9-dizameshchennyh imidazo[1,2-a] benzimidazolov [5-HT2A-antagonistic activity of C2, N9-disubstituted imidazo [1,2-a] benzimidazoles] In Sbornik trudov nauchno-prakticheskoy konferencii professorsko-prepodavatel'skogo kollektiva, 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.

8. Clinard C.T. et al. Activation of 5-HT2a receptors in the basolateral amygdala promotes defeat-induced anxiety and the acquisition of conditioned defeat in Syrian hamsters. *Neuropharmacology*, 2015, Vol. 90, pp. 102–112.

9. Maltsev D.V. et al. P. 4. c. 002 Anxiolytic action of a new 5-HT2A antagonist RU-476. *European neuropsychopharmacology*, 2013, Vol. 23, pp. 519–520.

10. Piszczek L. et al. Modulation of anxiety by cortical serotonin 1A receptors. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 2015, Vol. 9, pp. 48.

Контактная информация

Султанова Кира Тимуровна – соискатель кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: sultanova.pharma@gmail.com