*На правах рукописи*

ЕПИШИНА ВИКТОРИЯ ВЛАДИМИРОВНА

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ И ГЛУТАМИНОВой КИСЛОТ

14.00.25 фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Волгоград 2006

Работа выполнена на кафедре фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей Волгоградского государственного медицинского университета

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор

Тюренков Иван Николаевич

**Официальные оппоненты:** Заслуженный деятель науки РФ,

доктор медицинских наук, профессор

Воронина Татьяна Александровна

доктор медицинских наук, профессор

Островский Олег Владимирович

**Ведущая организация:** Воронежская государственная медицинская

академия

Защита состоится «\_\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2006 г. в \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_часов

на заседании Диссертационного совета Д 208.008.02 при Волгоградском

государственном медицинском университете (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Волгоградского государственного медицинского университета по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2006 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета А.Р. Бабаева

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность проблемы**

Психофармакологические препараты занимают прочные позиции в стандартах комплексного лечения психических и многих соматических патологий.(Сидоров П.И., Парняков А.В. 2002; Самохвалов В.П., 2002; Джекобсон Дж.Л., 2005; P.J. Perry, B. Alexander et al.. 1997 Hertzman M., Feltner D.E., 1997; Cookson J., Taylor D., Katona C., 2002). Любые нарушения психики (эмоциональной сферы, интеллекта, сна и др.) отрицательно сказываются на качестве жизни человека, его здоровье и способности выполнять социальную функцию (Ковалев Г.В. , 1990; Арушанян Э.Б, 2002; Арушанян Э.Б., 2003). Проблема медикаментозной оптимизации психической деятельности остается актуальной, поскольку многие современные психотропные средства обладают недостаточной эффективностью, лишены избирательности действия и имеют большое количество побочных эффектов (Д. Арана, Дж. Розенбаум, 2004; M.T. Sammons, N.B. Schmidt, 2001).

Доказано, что клинические эффекты психотропных средств - результат воздействия на системы нейромедиаторов. В связи с этим поиск веществ с психотропным действием в ряду производных естественных нейромедиаторов центральной нервной системы, является наиболее продуктивным путем создания новых нейропсихотропных лекарственных средств (Адрианов О.С., 1992; Пиотровский Л.Б., 1992; Воронина Т.А., Середенин С.Б.,1998; Кулинский В.И., 2001; Воронина Т.А., 2003; Арушунян Э.Б., 2003; Лурия А.Р., 2004;Jonathan S. Citow et. al., 2001)**.**

Гамма-аминомасляная и глютаминовая кислоты являются основными тормозным и возбуждающим нейротрансмиттерами в ЦНС присутствуют во всех структурах головного мозга, участвуют в регуляции практически всех его функций, включая высшие интегративные функции (поведение, условно-рефлекторная деятельность, эмоции, память) (Раевский К.С., Георгиев В.П., 1986; Citow J.S., Macdonald R.L., 2001; Debette S., Brodal P., 2003). На основе ГАМК создан целый ряд эффективных ноотропных препаратов (аминалон, пикамилон, пирацетам, фенибут, фенотропил и др.) обладающих также стресспротекторным (Островский О.В., Дудченко Г.П., 1985), вегетокорригирующим (Волчанский Е.И., 1985; Волчанский Е.И., Гурбанов К.Г., Тюренков И.Н., 1985), противоишемическим действием и целым рядом других эффектов (Ковалев Г.В., 1985). Активно изучается возможность терапии депрессий с помощью ГАМК-ергических средств (Калуев А.В., 1997; Калуев А.В., Натт Д.Дж., 2004). На основе лигандов рецепторов глутамата созданы лекарственные вещества, обладающие противосудорожной активностью (ламотриджин), ноотропным (мемантин), противопаркинсоническим (амантадин) и анальгетическим (кетамин) действием, активно разрабатываются антидепрессанты (Петров В.И., Онищенко Н.В., 2002;Петров В.И., 2003). Принимая во внимание широту и физиологическую значимость ГАМК и глютаминовой кислоты, можно считать перспективным поиск и создание на их основе фармакологически активных структурных аналогов, в частности с возможным психотропным действием.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего исследования является поиск в ряду новых гетероциклических производных гамма-аминомасляной (ГАМК) и глутаминовой кислот соединений, обладающих выраженным психотропным действием.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Скрининговый отбор соединений в ряду гетероциклических производных ГАМК и глутаминовой кислоты, обладающих психотропной активностью с использованием стандартных психофармакологических тестов.

2. Проведение углубленного изучения веществ с выраженным психотропным действием в сравнении с соответствующими эталонными препаратами.

3. Изучение спектра психотропной активности новых производных ГАМК и глутаминовой кислоты на животных с различными типами эмоционального реагирования.

4. Изучение зависимости доза-эффект для наиболее активных соединений, проявляющих наиболее выраженное нейропсихотропное действие.

5. Углубленное изучение нейропротекторной активности лидирующих соединений на различных экспериментальных моделях психопатологии.

6. Определение возможных механизмов действия изучаемых соединений, обладающих наиболее выраженной нейропсихотропной активностью.

**Научная новизна исследования.** Впервые проведено изучение психотропной активности новых гетероциклических производных ГАМК и глутаминовой кислоты, выявлены соединения, обладающие ноотропным, антидепрессивным, анксиолитическим действием, определен диапазон их эффективных доз. Впервые получены данные о нейропротекторных свойствах новых гетероциклических производных ГАМК и глутаминовой кислоты в условиях острого и хронического стресса, острой генерализованной гемической и гиперкапнической гипоксии, депривации парадоксальной фазы сна, генерализованных судорог. Впервые на основе морфо-функционального подхода проведено изучение нейропротекторного действия соединения РГПУ-195 при воздействии острого гипергравитационного стресса. Впервые проведен нейрофармакологический анализ возможных механизмов действия соединений РГПУ-195 и РГПУ-201.

**Научно-практическая ценность работы и реализация результатов исследования**

Тема диссертации является составной частью плана научно-исследовательской работы кафедры фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей Волгоградского государственного медицинского университета и утверждена на заседании Ученого совета ВолГМУ (Протокол №6 от 16 февраля 2005 года).

Приведенные результаты исследования нейропсихотропной активности новых гетероциклических производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот указывают на перспективность дальнейшего поиска эффективных психотропных препаратов в ряду производных данных нейромедиаторов. Представленные в работе данные стратификации животных по степени чувствительности к действию патологических факторов и фармакологических веществ, а также по влиянию на животных с различной степенью чувствительности к указанным воздействиям новых соединений и известных препаратов обосновывают необходимость предварительного типирования животных по характеру поведенческой активности, как при скрининговом изучении фармакологической активности веществ, так и при моделировании психопатологии. Выделенные новые производные ГАМК соединения РГПУ-195 и РГПУ-201 являются перспективными веществами для разработки на основе первого – ноотропного средства, на основе второго – антидепрессанта с ноотропным и анксиоседативным действием. Часть полученных данных используется в учебном процессе со слушателями факультета усовершенствования врачей и фармспециалистов на кафедре фармакологии и биофармации ФУВ ВолГМУ. Полученные данные используются химиками-синтетиками Российского государственного педагогического университета им. А.М. Герцена для проведения дальнейшего целенаправленного поиска в ряду новых производных ГАМК и ГК новых веществ с психотропным действием.

**Положения, выносимые на защиту**

1. Ряд новых гетероциклических производных ГАМК и ГК оказывает психостимулирующее действие (соединения РГПУ-198, РГПУ-199), анксиоседативное действие (соединения РГПУ-195, РГПУ-196, РГПУ-201) анксиоактивирующее (соединение РГПУ-197). Ноотропную активность сопоставимую с активностью препаратов сравнения фенотропила и фенибута проявили соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201.

2. Соединение РГПУ-201 обладает выраженной антидепрессантной активностью как на низко-, так и на высокоактивных животных, превосходящей таковую у препарата сравнения мелипрамина. Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 проявили выраженное антидепрессивное действие на низкоактивных животных и незначительное на высокоактивных.

3. Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 при однократном внутрибрюшинном введении обладают анксиолитической активностью в тесте приподнятого крестообразного лабиринта и тесте конфликтной ситуации по Вогелю, но достоверно уступают по активности препарату позитивного контроля диазепаму.

4. Соединения РГПУ-195 и РГПУ-201 как при однократном, так и при курсовом профилактическом внутрибрюшинном введении проявляют выраженную нейропротекторную активность в условиях действия различных экстремальных патологических факторов: острого эмоционально-болевого и гипергравитационного стресса, депривации парадоксальной фазы сна, острой генерализованной гиперкапнической и гемической гипоксии, генерализованных судорог. Соединение РГПУ-195 проявляет наиболее выраженную нейропротекторную активность и по ряду показателей достоверно превосходит препарат сравнения фенотропил.

5. Психотропная активность соединений РГПУ-195 и РГПУ-201 вероятно связана с дофаминомиметическим, серотониномиметическим, Н-холиномиметическим, ГАМКА-миметическим механизмом действия.

**Апробация работы**

Материалы диссертации докладывались и обсуждались на следующих научно-практических конференциях: 62-ой открытой итоговой конференции студентов и молодых ученых / ВолГМУ 19-23 апреля 2004 г. - Волгоград, 2004.; Х Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области, «Экспериментальные аспекты медицины», ноябрь 2005 г; международной научно-практической конференции «Фармация и здоровье» 9-12 ноября 2005 г. – Пермь; 4-ой Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» 13-16 марта 2006г., д/о Подмосковье, 2006; I международной (Х всероссийской) Пироговской студенческой научной медицинской конференции, март, 2006 г. - Москва, 2006; 80-й Всероссийской студенческой научной конференции (Казань, 11-13 апреля 2006 года).

**Публикации:** По материалам диссертации опубликовано 16 работ.

**Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 196 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 6 глав собственных исследований, обсуждение результатов, научно-практические рекомендации, выводы, список литературы, содержащий 262 источника, из них 138 отечественных и 124 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 30 рисунками и содержит 35 таблиц.

# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 612 крысах-самцах линии Вистар массой 180-220 г и 496 мышах-самцах линии BALB/C массой 25-30 г.

В настоящем исследовании изучена психотропная активность 7 новых производных нейромедиаторных аминокислот – ГАМК и глутаминовой, соединений с лабораторными шифрами: РГПУ-195, РГПУ-196, РГПУ-197, РГПУ-198, РГПУ-199, РГПУ-200 и РГПУ-201, синтезированных на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.Н. Герцена (Санкт-Петербург, Россия)\*.

Соединения растворялись в физиологическом растворе и вводились в дозах, составляющих 1/10 от молекулярной массы (мг/кг): РГПУ-195, РГПУ-197, РГПУ-198 – 22 мг/кг; РГПУ-196 – 27 мг/кг; РГПУ-199, РГПУ-200 – 29мг/кг; РГПУ-201 – 24 мг/кг. Пирацетам, фенибут и фенотропил применялись в терапевтически эффективных дозах –400 мг/кг, 25 мг/кг, 25 мг/кг соответственно. Контрольные группы животных получали физиологический раствор в эквивалентном объеме.

\*Приносим искреннюю благодарность зав. кафедрой органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.М. Герцена (Санкт-Петербург, Россия) ЗДН, д.х.н., профессору А.М. Берестовицкой и старшему научному сотруднику, к.х.н. О.С. Васильевой, предоставивших исследуемые вещества для нашей работы.

В качестве препаратов позитивного контроля на различных этапах исследования использовались: мелипрамин – 16 мг/кг, анальгин – 100мг/кг, диазепам – 1 мг/кг.

С целью предварительной рандомизации по степени чувствительности/устойчивости к действию патологических факторов и фармакологических веществ в тесте-предикторе «эмоциональный резонанс» (И.В. Жданова, Р.Н. Кордзадзе, Ю.Г. Пляшкевич, 1991) животные разделялись на поведенчески низкоактивных (НА) – прогностически высокочувствительных, высокоактивных – прогностически низкочувствительных и среднеактивных (СА) –составляющих основную массу протестированных крыс и предположительно среднечувствительных к экзогенным воздействиям. (Судаков К.В., Петров В.И., 1997; Середенин С.Б., Бадыштов Б.А. и др., 2001; Коплик Е.В., 2002; И.В. Ганнушкина и др., 2004).

Для изучения нейропсихотропной активности соединений использовались следующие психофармакологические тесты: т*ест «открытое поле»* (ОП) (Хаунина Р.А., Лапин И.П. 1976 г., Воронина Т.А. 1982; Гельман В.Я., Кременевская С.И., 1990); т*ест «приподнятый крестообразный лабиринт»* (ПКЛ) (Pellow S. et al., 1985); тест *«условная реакция пассивного избегания»* (УРПИ) (Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П., 1991; Воронина Т.А., Островская Р.У., 2000), *«тест экстраполяционного избавления»* (ТЭИ) (Бондаренко Н.А., 1992.), тесты *«вращающийся стержень»* (Караев А. Л, Козлова Г.С. и др., 2004 г.) и *«вертикальный экран-сетка»* (Калуев А.В., 2002; Nagatani T. et al., 1987); *«принудительное плавание с грузом»* (Суркова В.В., Тюренков И.Н., 1979; Сейфулла Р.Д, 1998; Морозов И.С., Клейменова Н.Н. 1998; Воронина Т.А., Островская Р.У., 2000); *«методика конфликтной ситуации» (вариант Vogel)* (Воронина Т.А., Середенин С.Б., 2000); *«модель пролонгирования снотворного действия барбитуратов»* (Воронина Т.А., Неробокова Л.Н., 2000); *тест термического раздражения хвоста путем погружения в воду температурой 58оС* (Судаков С.К. и др., 1995; Савельева К.В. и др., 1997); *тест раздражения лап электрическим током до вокализации* (Гузеватых Л.С., Валуйских Д.В., Воронина Т.А., 2005); *тест подвешивания мышей за хвост* (ПМХ) (Steru L. et al., 1985) и *методика принудительного плавания по Порсолту* (Porsolt R.D. et al., 1977).

Изучение нейропротекторного действия соединений проводилось с использованием следующих моделей нейропсихопатологии:

- модели острой генерализованной гипоксии: *нормобарической гипоксии с гиперкапнией* и *гемической гипоксии, вызванной нитритной интоксикацией* (нитрит натрия 250 мг/кг подкожно) (Воронина Т.А., Островская Р.У., 2000);

- *модели хемоиндуцированного эпилептогенеза вызванного введением пикротоксина (5 мг/кг) и коразола (90 мг/кг),* (Воронина Т.А., Неробокова Т.Н., 2000).

- модели острого стресса: *модель острого эмоционально-болевого стресса, вызываемого путем подвешивания животных за дорсальную шейную кожную складку на высоте 1,5м от пола длительностью 12 часов* (Островский О.В., Дудченко Г.П., 1985; Аряев В. Л., Кресюн В. И. 1990); модель *острого гипергравитационного стресса., вызываемого путем вращения на специальной центрифуге в горизонтальной плоскости в краниокаудальном векторе при величине перегрузки 6g.* (Гаевый М.Д., 2000).

- модель хронического стресса: *48-часовой депривации парадоксальной фазы сна* (Вознесенский А.Г. и др., 1989; Воронина Т.А. и др., 1990; Jouvet et al. 1964)

Стресспротекторное действие соединений оценивалось по влиянию на психоневрологический статус животных в тестах ОП, УРПИ, ПКЛ и ТЭИ. На модели гипергравитационного стресса данные психофармакологические тесты сочетались с оценкой выраженности неврологического дефицита по шкале McGraw и «стрессорной триады»- гипертрофии надпочечников, инволюции тимуса (на торсионных весах проводилось взвешивание органов с определением относительной массы в мг/100г веса животного) и степени изъязвления слизистой желудка (по шкале Перцова С.С., 1995).

Нейрофармакологический анализ возможных механизмов действия соединений РГПУ-195 и РГПУ-201 проведен в соответствии с требованиями "Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ" - Фармакологический государственный комитет, МЗ РФ, Москва, 2005".

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием параметрического t-критерия Стьюдента, непараметрического U-критерия Манна-Уитни, точного критерия Фишера, методом однофакторного дисперсионного анализа, критерия Стьюдента с поправкой Бонферони для множественных сравнений, а также критериев Ньюмена-Кейлса и Данна для множественных сравнений. Обработка данных производилась с помощью пакетов программ Microsoft Excel XP, STATISTICA 5.0, Biostatistics 4.03. Статистически значимыми расценивались эффекты при p<0,05.

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Данные о влиянии исследуемых веществ на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность животных представлены на рис.1.

**Рис 1. Влияние однократного введения соединений на параметры поведения животных в тесте "открытое поле".***Обозначения: \* - p<0,05– достоверность различий по сравнению с контрольной группой животных (ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, критерий Данна для множественных сравнений).*



Помимо этого соединения РГПУ-197, РГПУ-201 достоверно повышали количество заходов в центральную зону ОП, уменьшали число актов груминга и фекальных болюсов - проявляли анксиолитическое действие. Результаты теста ОП позволяют сделать выводы о наличии психостимулирующего действия у соединений РГПУ-198 и РГПУ-199, о наличии анксиоседативных свойств у соединений РГПУ-195, РГПУ-196, РГПУ-201 и анксиоактивирующих – у соединения РГПУ-197.

В тесте «Условная реакция пассивного избегания»у животных, получавших перед обучением РГПУ-195, РГПУ- 197, РГПУ-198, РГПУ-201, латентный период захода в темный отсек был достоверно больше, а количество заходов – меньше, чем у животных контрольной группы на всех этапах воспроизведения (через 24 часа, на 7-й, 30-й и 60-й день после обучения), что говорит о положительном влиянии на память и наличии ноотропных свойств (Рис.2.). Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 достоверно превосходили по выраженности ноотропного эффекта «эталонный ноотроп» пирацетам.

**Рис 2. Влияние соединений на латентный период первого захода в темный отсек у подвергшихся гравитационной ишемии животных в тесте УРПИ.**



*Обозначения: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01 – достоверность различий по сравнению с контрольной группой животных (ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, критерий Данна для множественных сравнений).*

Результатытеста «приподнятый крестообразный лабиринт» подтвердили наличие анксиолитической активности у соединений РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201, поскольку перечисленные соединения и препараты достоверно увеличивали продолжительность времени, проводимого животными в открытых рукавах лабиринта по сравнению с показателем животных контрольной группы (Рис.3.).



**Рис.3. Влияние соединений на продолжительность времени, проводимого животными в открытых рукавах в тесте "приподнятый крестообразный лабиринт"**

*Обозначения: \* - p<0,05– достоверность различий по сравнению с контрольной группой животных (ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, критерий Данна для множественных сравнений).*

В тесте «Экстраполяционного избавления» соединения РГПУ-195, РГПУ-197, РГПУ-201 достоверно по сравнению с показателем группы контроля уменьшали латентный период двигательной активности (скорость ориентировочных реакций) и латентный период подныривания (скорость решения экстраполяционной задачи) – как на этапе обучения навыку избавления, так и на этапе его воспроизведения, что свидетельствует о положительном влиянии указанных соединений на обучаемость и память, характеризующих состояние когнитивной функции, и подтверждают наличие ноотропной активности, которая у соединений РГПУ-195, РГПУ-197, РГПУ-198, РГПУ-201 выражена в большей степени, чем у препарата сравнения пирацетама, а у РГПУ-201 – чем у фенибута и фенотропила, что подтверждает результаты теста УРПИ.Под влиянием однократного введения РГПУ-195, РГПУ-197, РГПУ-201 время иммобилизации (поведенческий коррелят депрессии) на этапе обучения достоверно уменьшалось, а количество прыжков (активных попыток избежать угрожающей ситуации) возрастало по сравнению с показателями животных группы контроля, что говорит об антидепрессантных свойствах данных соединений. В тестах «подвешивания мышей за хвост» (Рис.4.) и принудительного плавания по Порсолту эти вещества также достоверно уменьшали у животных продолжительность иммобилизации, что подтверждает наличие антидепрессантных свойств. В наибольшей степени этот эффект был выражен у соединения РГПУ-201 и РГПУ-197, при этом РГПУ-201 превосходило по активности специфический антидепрессант мелипрамин.



**Рис.4. Влияние соединений на продолжительность иммобилизации животных в тесте подвешивания мышей за хвост.** *Обозначения: \* - p<0,05– достоверность различий по сравнению с контрольной группой животных (ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, критерий Данна для множественных сравнений).*

Животные, которым вводились производные глутаминовой кислоты РГПУ-198 и РГПУ-199, избегали открытых рукавов в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт», а в «тесте экстраполяционного избавления» увеличивали продолжительность иммобилизации и латентный период подныривания (замедляли решение экстраполяционной задачи), что вероятно связано с усилением тревожности под влиянием указанных веществ, которая, как известно, снижает скорость реакции и затрудняет целенаправленную деятельность.

Соединения РГПУ-195, РГПУ-197, РГПУ-201 проявляют специфическую ноотропную активность, что выражается в улучшении под их влиянием процессов запоминания, сохранения и воспроизведения информации как в динамике, так и в условиях амнезирующего действия холинолитика скополамина и острого эмоционально-болевого стресса.

Соединения РГПУ-195 и, в большей мере, соединение РГПУ-201 значительно повышали физическую работоспособность и ускоряли адаптацию к повторяющимся форсированным физическим нагрузкам в тесте принудительного плавания с грузом.

**Рис.5. Влияние соединений на физическую работоспособность в «тесте принудительного плавания с грузом», вес которого составляет 20% от массы тела животного.** *Обозначения: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01– достоверность различий по сравнению с контрольной группой животных (ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, критерий Данна для множественных сравнений).*



Соединения РГПУ195, РГПУ-196, РГПУ-197, РГПУ-201 в тесте конфликтной ситуации по Вогелю устраняли явления страха и тревожности перед действием наказующего болевого фактора и приводили, тем самым, к растормаживанию мотивации удовлетворения жажды, увеличивая число наказуемых взятий воды из поилки, что доказывает наличие у них специфической анксиолитической активности (Рис.6.).

Косвенно наличие такого рода активности подтверждается наличием у данных соединений способности потенцировать и пролонгировать снотворный эффект производного барбитуровой кислоты тиопентала натрия, свойственной большому числу специфических анксиолитических и седативных средств и наиболее выраженной у РГПУ-195.

**Рис.6. Влияние соединений на поведение животных в тесте «конфликтная ситуация, вариант Vogel»***Обозначения: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01– достоверность различий по сравнению с контрольной группой животных (ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, критерий Данна для множественных сравнений).*



Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 в условиях острой генерализованной гипоксии проявили противогипоксическую активность (Таблица 1)

**Таблица 1.**

**Влияние соединений на продолжительность жизни животных в условиях гиперкапнической и гемической гипоксии**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Группы** | **Гиперкапническая гипоксия** | | **Гемическая гипоксия** | |
| ЛПА, сек.  **(М ± m)** | **%** | **Время жизни, сек. (М ± m)** | **%** |
| Контроль | **1220±32,59** |  | **1811±37,86** |  |
| Фенибут | **1721±37,28\*#** | **141%** | **2669±37,57\*\*** | **147,4%** |
| Пирацетам | **1645±36,86\*** | **134%** | **2522±36,92\*\*** | **139,3%** |
| Фенотропил | **1811±36,80\*\*#** | **148%** | **2856±37,58\*\*#** | **157,7%** |
| РГПУ-195 | **1739±37,66\*#** | **142,5%** | **2786±36,65\*\*#** | **153,8%** |
| РГПУ-197 | **1838±37,87\*\*#** | **150,7%** | **2903±36,13\*\*#** | **160,3%** |
| РГПУ-201 | **1848±37,55\*\*#** | **157,5%** | **2885±36,10\*\*#** | **159,3%** |
| **n=8** | | | **n=8** | |

*Обозначения: ЛПА – латентный период наступления апноэ у животных в условиях нормобарической гипоксии с гиперкапнией; Время жизни – время выживания животных в условиях гемической гипоксии на фоне метгемоглобинобразования.*

*\* - p<0,05, \*\* - p<0.01 – достоверность различий по сравнению с контрольной группой животных (непараметрический U-критерий Манна-Уитни; ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, критерий Данна для множественных сравнений).*

и достоверно превосходили препараты сравнения пирацетам и фенибут, и недостоверно – фенотропил.

Соединения РГПУ-195 и РГПУ-201 в условиях генерализованных клонико-тонических судорог, вызванных введением пикротоксина и коразола, оказали нейропротекторный эффект, что проявлялось в достоверном увеличении латентного периода до развития судорог, уменьшении длительности и выраженности тонической и клонической фаз судорог, а также их общей продолжительности, снижении числа летальных исходов в группе. Поскольку оба использованных конвульсанта проявляют антагонистическое взаимодействие с ГАМКА-рецепторами, данные эффекты соединений можно объяснить возможным ГАМКА-миметическим действием.

Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 оказывали выраженное нейропротекторное действие в условиях острого эмоционально-болевого стресса, 48-часовой депривации парадоксальной фазы сна, а также острого гипергравитационного стресса препятствуя развитию нарушений

**Таблица 2.**

**Влияние соединений на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность стрессированных среднеактивных животных в тесте «отрытое поле» (ОП) и степень тревожности в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (значения показателей M±m).**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Группы** | **«открытое поле»** | | **«приподнятый крестообразный лабиринт»** | |
| **ГДА** | **СОИА** | **ВСО** | **ВТО** |
| Интактные | 34,21±2,15 | 11,54±0,85 | 46.71±1.24 | 127.12±2.35 |
| Стрессированные | 17,24±0,25\*\* | 4,38±0,64\*\* | 9.78±0.25\*\* | 167.34±2.15\*\* |
| Пирацетам | 19,88±1,18\*\*# | 5.16.57\*\*# | 16.14±0.53\*\*# | 154.25±1.47\*\*# |
| Фенибут | 24.21±1.58\*# | 6.75±0.63\*# | 26.35±0.84\*\*## | 147.54±1.25\*# |
| Фенотропил | 28.42±1.18\*## | 7.88±0.34\*## | 32.24±1.11\*## | 142.25±1.42## |
| РГПУ-195 | 32.48±1.46## | 10.57±0.49## | 43.51±1.46## | 133.24±1.47## |
| РГПУ-197 | 30.27±0.42## | 8.79±0.62\*## | 40.57±1.18## | 136.54±2.34## |
| РГПУ-201 | 28.87±1.06## | 9.47±0.78## | 41.68±1.57## | 134.87±2.36## |
| **n=7** | | | | |

*Обозначения: в тесте ОП - ГДА – горизонтальная двигательная активность (число пересеченных квадратов); СОИА – суммарная ориентировочно-исследовательская активность (сумма количества вертикальных стоек и заглядываний в отверстия);* в тесте ПКЛ - *ВСО – время в светлом отсеке (сек.); ВТО – время в темном отсеке (сек.).*

*\* - p<0,05;\*\* - p<0,01 - – достоверность различий по сравнению с группой интактных животных (непараметрическийU-критерий Манна-Уитни).*

*# - p<0,05;## - p<0,01 - – достоверность различий по сравнению с группой стрессированных животных (непараметрическийU-критерий Манна-Уитни).*

психоневрологического статуса у животных в постстрессорном периоде (угнетение локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности в «открытом поле», повышение тревожно-фобических реакций в «приподнятом крестообразном лабиринте» (Таблица 2), нарушение памяти в тестах «условная реакция пассивного избегания» и «тесте экстраполяционного избавления» (Таблица 3)) и уменьшая степень их выраженности. По нейропротекторному действию данные соединения превосходили пирацетам, фенибут и фенотропил. Наибольшей нейропротекторной активностью в условиях стресса различного генеза обладало соединение РГПУ-195.

**Таблица 3.**

**Влияние соединений на состояние памяти стрессированных среднеактивных животных в тестах «условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) и «тест экстраполяционного избавления» (ТЭИ).**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Группы** | **Воспроизведение УРПИ** | | | **Воспроизведение ТЭИ** | | |
| **ЛПЗ (M±m)** | **n/N** | **%** | **ЛПП (M±m)** | **n/N** | **%** |
| Интактные | 173.45±19.38 | 0/7 | 0 | 21.32±1.08 | 0/7 | 0 |
| Стрессированные | 88.36±5.62\*\* | 5/7 | 71,4\*\* | 96.31±2.15\*\* | 6/7 | 85.7\*\* |
| Пирацетам | 121.32±10.65\*\*# | 4/7 | 51.7\*\*# | 68.52±1.35\*\*# | 5/7 | 71.4\*\* |
| Фенибут | 139.37±10.24\*# | 3/7 | 42.85\*\*# | 51.64±1.48\*# | 4/7 | 51.7\*\*# |
| Фенотропил | 151.85±10.52\*## | 2/7 | 28.57\*\*## | 42.54±1.65## | 3/7 | 42.85\*\*# |
| РГПУ-195 | 167.53±11.24## | 2/7 | 28.57\*\*## | 31.14±1.22## | 3/7 | 42.85\*\*# |
| РГПУ-197 | 159.11±11.28## | 2/7 | 28.57\*\*## | 35.28±1.56## | 3/7 | 42.85\*\*# |
| РГПУ-201 | 160.32±11.54## | 2/7 | 28.57\*\*## | 33.17±1.51## | 3/7 | 42.85\*\*# |
| **n=7** | | | | | | |

*Обозначения: в тесте УРПИ - ЛП – латентный период первого захода в темный отсек (сек); в тесте ТЭИ - ЛПП – латентный период подныривания (сек.). n/N-количество животных в группе посетивших темный отсек в тесте УРПИ или не решивших экстраполяционную задачу в тесте ТЭИ (n) из общего числа животных в группе (N); % - процент животных в группе, посетивших темный отсек в тесте УРПИ или не решивших задачу в тесте ТЭИ.*

*\* - p<0,05;\*\* - p<0,01 - – достоверность различий по сравнению с группой интактных животных (непараметрическийU-критерий Манна-Уитни; критерий χ2).*

*# - p<0,05;## - p<0,01 - – достоверность различий по сравнению с группой стрессированных животных (непараметрическийU-критерий Манна-Уитни; критерий χ2).*

При морфологическом изучении (морфометрический метод определения степени поражения центральной нервной системы по Чубинидзе А.И., 1972) нейропротекторное действие РГПУ-195 было более значимым по сравнению с фенотропилом и выражалось в статистически достоверном уменьшении гиперхромных, гидропически измененных нейронов в следующих образованиях головного мозга: гиппокамп, гипоталамические ядра, амигдалярный комплекс, таламическая область (передние отделы), ядерные образования вентрального отдела продолговатого мозга.

Проведенный *in vivo* нейрофармакологический анализ взаимодействия соединений РГПУ-195 и РГПУ-201 с основными нейромедиаторными системами головного мозга показал, соединения РГПУ-195 и РГПУ-201 вероятно, обладают дофаминомиметическим, Н-холиномиметическим, ГАМКА-миметическим и серотониномиметическим механизмом действия. Помимо этого, выявлено отсутствие взаимодействия с центральными адренергическими рецепторами, М-холинорецепторами у данных соединений. Таким образом, выявленные компоненты механизма действия соединений с достаточно высокой вероятностью объясняют наличие у них антидепрессантной активности за счет усиления дофамин- и серотонинергической нейропередачи, поскольку в основе патогенеза депрессий лежит снижение активности данных систем. Взаимодействие соединений РГПУ-195 и РГПУ-201 с серотонин- и дофаминергической системами объясняет также протективное влияние данных соединений на эмоциональный статус животных в условиях различной психопатологии. Выявленные в результате проведенного исследования ноотропные и нейропротекторные свойства данных соединений могут быть обусловлены влиянием на холинергическую и ГАМК-ергическую нейротрансмиссию, участие которых в процессах памяти, адаптогенеза, нейропротекции является доказанным научным фактом.

Таким образом, проведенные исследования выявили несколько перспективных для дальнейшего изучения соединений, обладающих оригинальным спектром фармакологической нейропсихотропной активности. Полученные данные обосновывают целесообразность разработки выделенных соединений в качестве потенциального ноотропа с анксиоседативным действием (РГПУ-195), ноотропа с анксиоактивирующим и антидепрессантным действием (РГПУ-197) и антидепрессанта с анксиоседативным и ноотропным действием (РГПУ-201).

**ВЫВОДЫ**

1. Новые производные ГАМК и ГК оказывают ноотропное действие (РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201); антидепрессивное (РГПУ-201, РГПУ-197); анксиоседативное действие (РГПУ-195, РГПУ-196 и, в большей степени РГПУ-201); анксиоактивирующее действие (РГПУ197); психостимулирующее действие (РГПУ- 198 и РГПУ-199).

2. Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 в тестах УРПИ, ТЭИ, а также в условиях амнезирующего действия скополамина, острого и хронического стресса оказывают выраженное ноотропное действие.

3. Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 оказывают антидепрессантное действие в тестах «подвешивания мышей за хвост» и принудительного плавания по Порсолту, более выраженное на низкоактивных животных, и менее – на высокоактивных. Антидепрессантное действие соединения РГПУ-201 проявляется как на низко-, так и на высокоактивных животных. По антидепрессивной активности данное вещество превосходит препарат сравнения мелипрамин.

4. Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 при однократном внутрибрюшинном введении обладают анксиолитической активностью в тесте конфликтной ситуации по Вогелю, но достоверно уступают по активности препарату позитивного контроля диазепаму.

5. Соединения РГПУ-195, РГПУ-197 и РГПУ-201 как при однократном, так и при курсовом профилактическом внутрибрюшинном введении проявляют выраженную нейропротекторную активность в условиях острого эмоционально-болевого и гипергравитационного стресса, депривации парадоксальной фазы сна, острой генерализованной гиперкапнической и гемической гипоксии, генерализованных судорог. Соединение РГПУ-195 проявляет наиболее выраженную нейропротекторную активность и по ряду показателей достоверно превосходит препарат сравнения фенотропил.

6. Гетероциклические производные ГАМК оказывали более выраженное ноотропное, анксиоседативное и антидепрессивное действие, чем производные глутаминовой кислоты, имеющие одинаковые заместители в бета-положении. Производные глутаминовой кислоты оказывали активирующее действие с проявлениями тревоги.

**НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1 Целесообразна дальнейшая разработка соединения РГПУ-195 в качестве ноотропного средства с анксиоседативным действием и выраженной нейропротекторной активностью.

2. Приведенные результаты исследования позволяют рекомендовать дальнейшее изучение соединения РГПУ-201 в качестве антидепрессанта с оригинальным спектром фармакологической активности: сочетание антидепрессантного действия с выраженным ноотропным, анксиоседативным и нейропротекторным эффектами.

3. Полученные данные могут являться полезными для химиков, осуществляющих целенаправленный синтез веществ с определенным спектром психотропной и нейротропной активности.

**Список опубликованных работ по теме диссертации:**

1. Епишина В.В. Сравнительное изучение спектра психотропной активности ряда новых производных ГАМК и глутаминовой кислоты и оценка их нейропротекторного действия / В.В. Епишина, М.Н. Багметов, А.В. Воронков, Л.Е. Бородкина // IX Региональная конференция молодых исследователей Волгоградской области: Тезисы докладов/ Под ред. В.Б. Писарева, М.Е. Стаценко / ВолГМУ – Волгоград, 2005. – С. 41-46.

2. Бородкина Л.Е. Сравнительное изучение спектра психотропной активности имидазольных производных ГАМК и глутаминовой кислоты / Л.Е. Бородкина, И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, В.В, Епишина, М.Н. Багметов // Успехи современного естествознания. – Москва: «Академия естествознания», 2004. - .№12. - С. 36 – 37.

3. Тюренков И.Н. Психотропная активность производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот / И.Н. Тюренков, В.В. Епишина, Л.Е. Бородкина, А.В. Воронков, М.Н. Багметов // Естествознание и гуманизм: сборник научных трудов. – Томск 2004. – Т.1, №1. – С.55-58.

4. Тюренков И.Н. Нейропротекторная активность производных гамма-аминомасляной кислоты и глутаминовой кислоты в условиях острого эмоционально-болевого стресса / И.Н. Тюренков, В.В. Епишина, Л.Е. Бородкина, А.В. Воронков, М.Н. Багметов // Естествознание и гуманизм: сборник научных трудов. – Томск 2004. – Т.1, №1. – С.58 – 61.

5. Тюренков И.Н. Экспериментальная характеристика спектра психотропной активности пиридиновых производных ГАМК и глутаминовой кислоты / И.Н. Тюренков, В.В. Епишина, Л.Е. Бородкина, А.В. Воронков, В.М. Берестовицкая, О.С. Васильева, Е.С. Остроглядов // Человек и лекарство: тезисы докладов 12-го Российского национального конгресса 18-22апреля 2005г. – Москва, 2005. – С. 807-808.

6. Бородкина Л.Е. Результаты изучения психотропных свойств производных глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот / Л.Е. Бородкина, И.Н. Тюренков, В.В. Епишина, М.Н. Багметов, В.М. Берестовицкая, Е.С. Остроглядов // Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии: материалы научной конференции с международным участием 12-19 июня 2005г., Тунис / Фундаментальные исследования. Научно-теоретический журнал. – Москва: «Академия естествознания», 2005. - №5. – С.41.

7. Тюренков И.Н. Экспериментальное сравнение нейропротекторных свойств фенильного, имидазольного и пиридинового производных гамма-аминомасляной кислоты после острого стрессорного воздействия / И.Н. Тюренков, Л.Е. Бородкина, В.В. Епишина // Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии: материалы научной конференции с международным участием 12-19 июня 2005г., Тунис / Фундаментальные исследования. Научно-теоретический журнал. – Москва: «Академия естествознания», 2005. - №5. – С.94.

8. Епишина В.В. Влияние имидазольных производных ГАМК и глутаминовой кислоты на стресс обусловленные изменения поведения животных, вызванные депривацией сна / В.В. Епишина, И.Н. Тюренков, Л.Е. Бородкина, А.В. Воронков, М.Н. Багметов // Успехи современного естествознания .№12., материалы научной конференции «Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины» 15 – 25 Января 2005 г. Паттая, (Тайланд), с. 44 – 45.

9. Borodkina L.E. Experimental study of stress-conditioned changes in animal behavior caused by sleep deprivation after administration of GABA imidazole derivative / L.E. Borodkina, M.N. Bagmetov, V.V. Epishina, A.V Voronkov, I.N. Tyurenkov // European neuropsychopharmacology. – april 2005. – volume 15, supplement 2. – S.200.

10. Voronkov A.V. Comparative study of psychotropic activity of pyridine derivatives of γ-aminobutyric and glutamic acids / A.V. Voronkov, M.N. Bagmetov, V.V. Epishina, L.E. Borodkina, I.N. Tyurenkov // European neuropsychopharmacology volume. - april 2005. - volume 15, supplement 2. - SS.200-201.

11. Епишина В.В. Влияние фенильных производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот на физическую работоспособность животных при повторяющихся физических нагрузках / В.В. Епишина, М.Н. Багметов, А.А. Литвинов, Е.Р. Шурыгина, И.Н. Тюренков // Человек и лекарство: тезисы докладов 13-го Российского национального конгресса 03-07 апреля 2006г. – Москва, 2006. – С.523-524.

12. Тюренков И.Н. Пирролидоновые производные гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот – ряд психотропных эффектов в сравнительном аспекте / И.Н. Тюренков, В.В. Епишина., М.Н. Багметов, Е.С. Остроглядов, В.М. Берестовицкая, М.М. Зобачева, О.С. Васильева // Фармация и здоровье: Материалы международной научно-практической конференции (9-12 ноября 2005 г.) /под ред. проф. В.В. Юшкова, проф. Г.И. Олешко, доц. М.Д. Решетниковой. – Пермь: ПГФА, 2005. – С.210.

13. Яценко О.В. Экспериментальная характеристика ноотропного действия гетероциклических производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот / О.В. Яценко, Т.В. Садыкова, В.В. Епишина, М.Н. Багметов // Х Региональная конференция молодых исследователей Волгоградской области, направление «Экспериментальные аспекты медицины», 8-11 ноября 2005 г.: Тезисы докладов / Под ред. Проф. М.Е. Стаценко. / Издательство ВолГМУ: Волгоград, 2005. – С.52-53.

14. Тюренков И.Н.Сравнительная оценка нейропротекторного действия фенибута и пирацетама в условиях экспериментальной ишемии мозга у крыс / И.Н. Тюренков, М.Н. Багметов, В.В. Епишина, Л.Е. Бородкина, А.В. Воронков // Экспериментальная и клиническая фармакология - 2006. – Т.69, №3. – С.19-22.

15. Литвинов А.А. Изучение антидепрессантной активности фенильных производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот на предрасположенных к развитию депрессии животных / А.А.Литвинов, В.В.Епишина, М.Н.Багметов, О.В.Яценко, Т.В.Садыкова // 80-Я Всероссийская студенческая научная конференция (Казань, 11-13 апреля 2006 года): материалы 80-й Всероссийской студенческой научной конференции. – Казань, 2006. – С.72.

16. Епишина В.В. Изучение антидепрессивного действия нового производного ГАМК у животных с различным типом поведенческой активности / В.В. Епишина, М.Н. Багметов, Т.В. Садыкова, И.Н. Тюренков, О.С. Васильева. // Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам: тезисы докладов 4-й Международной конференции 13-16 марта 2006г., д/о Подмосковье. - Москва, 2006. – С. 29.