Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров’я України

ПОДОЛЬСЬКИЙ ІЛЛЯ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 547.831.8:547-304.2:615.214:615.015:57.084.1

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ 3-N-R,R′-АМІНОМЕТИЛЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ ХІНОЛІН-4-ОНІВ ЯК ПСИХОТРОПНИХ ЗАСОБІВ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фармацевтичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків.

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор
ШТРИГОЛЬ Сергій Юрійович,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України, завідувач кафедри
фармакології та фармакотерапії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
МАРЧИШИН Світлана Михайлівна,
ДВНЗ «Тернопільський державний
медичний університет ім. І. Я. Горбачевського»
МОЗ України, завідувачка кафедри
фармакогнозії з медичною ботанікою

доктор фармацевтичних наук, професор
СИРОВА Ганна Олегівна,
Харківський національний медичний університет
МОЗ України, завідувачка кафедри
медичної та біоорганічної хімії

доктор медичних наук, професор
ЖИЛЮК Володимир Іванович,
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України», завідувач кафедри
фармакології і клінічної фармакології

Захист відбудеться « » квітня 2021 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий « » лютого 2021 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д.фарм.н., професор К. Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Згідно з результатами епідеміологічного дослідження ВООЗ «Global Burden of Disease Study 2017» (S. L. James et al., 2017), психічні та неврологічні розлади посідають одне з провідних місць серед працездатного населення планети. Станом на 2017 р. близько 970 млн. осіб страждають на ті чи інші психічні розлади, а захворюваність складає понад 330 млн. випадків на рік, тобто приріст становить третину щороку. В аспекті медико-соціальної значущості цієї групи захворювань вражає кількість років, прожитих із захворюванням (YLD), – понад 120 млн. років, що складає близько 20 % від показника для всіх неінфекційних захворювань. Виникаючи в дитинстві або молодому віці, психічні розлади здатні спричиняти тривалу або пожиттєву непрацездатність з тяжкими соціально-економічними наслідками.

Особливе місце у структурі психічних захворювань посідають депресивні розлади – на них у світі страждає понад 260 млн. осіб (S. L. James et al., 2017). Захворюваність у 2017 р. склала 258 млн. випадків (27 % від усіх зареєстрованих психічних розладів), тобто показник поширеності протягом року подвоюється. Це пояснюється перш за все високою стресогенністю сучасного життя, оскільки доведено велику роль гіперактивації гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи загалом та підвищеного рівня кортизолу зокрема у патогенезі депресій, особливо великих депресивних розладів (A. Strohle, F. Holsboer, 2003; D. F. Swaab et al., 2005; G. E. Tafet, R. Bernardini, 2003; G. E. Tafet, C. Nemeroff, 2016; L. Yang et al., 2015). Доведено зв’язок між захворюваністю на депресивні розлади та мешканням населення у зоні збройних конфліктів (F. Charlson et al., 2019). На жаль, з 2014 р. ця ситуація особливо стосується психічного здоров’я населення України – станом на 2015 р. за даними ВООЗ поширеність депресій в Україні є найвищою у світі та складає 6,31 випадків на 1000 населення країни (The Global Health Observatory. Estimated population-based prevalence of depression, 2020). У 2020 р. значним чином на психічне здоров’я населення планети, зокрема на поширеність депресивних і тривожних розладів, негативно вплинула пандемія COVID-19, а саме її медичні та соціально-економічні наслідки (J. Xiong et al., 2020).

Основним методом контролю та корекції цієї групи захворювань залишається фармакотерапія (C. W. Ng et al., 2017). Усі класи препаратів психотропної дії об’єднує загальний принцип їх втручання в основну ланку патогенезу захворювання – порушення та/або дисбаланс функціонального стану тих чи інших нейромедіаторних систем. Більшість сучасних психотропних препаратів достатньо ефективні, але особливістю їх клінічного застосування є довготривала, якщо не пожиттєва, терапія (C. W. Ng et al., 2017). Тому постає проблема безпеки антидепресантів, анксіолітиків, антипсихотиків та інших лікарських засобів за довготривалого застосування, що часто перешкоджає успішному лікуванню (H. Verdoux, 2018). Отже, проблема розробки та впровадження у медичну практику більш ефективних та, головне, безпечних психотропних препаратів надовго залишиться актуальною проблемою сучасної фармакології.

У попередніх роботах дисертанта зі співавт. теоретично обґрунтовано певну спорідненість хімічних структур нового класу сполук – 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів – з нейромедіатором серотоніном та відомими лігандами

серотонінових рецепторів (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010; В. О. Зубков, 2013). На основі цієї гіпотези проведено скринінг шести 3-N-R,R′-амінометилзаміщених похідних хінолін-4-онів, що значно відрізнялись замісниками в амінометильному та в гетероциклічному фрагментах молекул. Його результати підтвердили перспективність пошуку нових психо- та нейротропних сполук серед 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів – виявлено сполуки, які поєднують високу антиамнестичну активність з антидепресивною або анксіолітичною (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010).

Вищезазначене визначає перспективність подальшого пошуку нових психо- та нейротропних сполук у ряді 3-N-R,R′-амінометилзаміщених похідних хінолін-4-онів, визначення сполуки-лідера з поглибленим фармакологічним дослідженням за основною активністю, вивчення механізмів дії, виявлення супутніх психофармакологічних властивостей та вивчення параметрів безпеки.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ МОЗ України у рамках теми «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.).

Мета і завдання дослідження. *Мета дослідження* – експериментальне обґрунтування застосування 3-N-R,R′-амінометилзаміщених похідних хінолін-4-онів як психотропних засобів.

Для досягнення мети були поставлені такі *завдання*:

1. Здійснити скринінг нових похідних 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів та споріднених до них за хімічною будовою 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів на психотропні (вплив на поведінку у відкритому полі, депресивну поведінку, тривожність, пам’ять, координацію рухів) та антигіпоксичні властивості. На підставі результатів скринінгу та попередніх досліджень встановити зв’язок «хімічна структура – біологічна активність», вибрати сполуку-лідера зі сприятливим профілем активності для поглиблених досліджень.
2. Поглиблено дослідити антидепресивні властивості сполуки-лідера, визначити її умовно ефективну дозу, динаміку розвитку антидепресивного ефекту та його хронофармакологічні особливості.
3. Визначити можливі механізми антидепресивної дії сполуки-лідера за взаємодією з речовинами-аналізаторами нейромедіаторних систем головного мозку – клонідином, галоперидолом, L-діоксифенілаланіном та 5-гідрокситриптофаном, а також за впливом на обмін церебральних моноамінів.
4. Оцінити вплив сполуки-лідера на когнітивні функції (пам’ять та її фази, просторова орієнтація та ефективність навчання), витривалість до різних видів гіпоксії та фізичного навантаження.
5. З’ясувати можливі церебропротекторні властивості сполуки-лідера на моделях закритої черепно-мозкової травми та білатеральної каротидної оклюзії.
6. Визначити можливі аналгетичні властивості сполуки-лідера та їх механізми, оцінити здатність викликати залежність, вдосконалити методичні підходи до вивчення адиктивного потенціалу хімічних речовин та лікарських препаратів.
7. Охарактеризувати взаємодію сполуки-лідера з речовинами, що збуджують та пригнічують ЦНС.

8. Дослідити методами *in silico* можливі шляхи біотрансформації сполуки-лідера в організмі людини та оцінити вірогідність її зв'язування з основними мішенями, що можуть бути залучені до механізмів основного та супутніх фармакологічних ефектів.

9. Визначити гостру та підгостру токсичність сполуки-лідера.

Об'єкт дослідження: вдосконалення фармакокорекції депресивних розладів та коморбідних порушень.

Предмет дослідження: психо- та нейротропні властивості 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів та похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів, механізми дії та показники безпеки сполуки-лідера.

Методи дослідження. Фармакологічні (поведінкові тести; моделювання антероградної амнезії та когнітивних розладів М-холіноблокатором скополаміном, депресивних порушень – симпатолітиком резерпіном, пригнічення ЦНС – за допомогою етанолу та тіопенталу натрію, збудження ЦНС – кофеїном, судом – стрихніном та тіосемикарбазидом, ЧМТ легкого ступеня – вільним падінням вантажу, глобальної ішемії головного мозку – білатеральною каротидною оклюзією; фармакологічний аналіз із застосуванням налоксону, клонідину, пропранололу, галоперидолу, L-діоксифенілаланіну, 5-гідрокситриптофану), імуноферментні (визначення вмісту церебральних моноамінів), біохімічні (визначення показників крові та сечі при дослідженні підгострої токсичності, ПОЛ-АОЗ та енергетичного обміну в гомогенаті головного мозку на тлі ЧМТ), функціональні (дослідження видільної функції нирок), гематологічні, інструментальні (ЕКГ), токсикологічні (визначення гострої та підгострої токсичності), гістологічні (дослідження гістоструктури СМК і кори мозочка головного мозку, серця, нирок, наднирників, печінки, селезінки, шлунка та гонад методами світлової мікроскопії), статистичні методи (розрахунок середніх та їх стандартних похибок, медіан та квартилів, оцінка міжгрупових відмінностей, кореляційний аналіз), методи комп'ютерного прогнозування та моделювання (гнучкий рецепторно-орієнтований докінг).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено можливість підвищення ефективності та безпеки лікування депресивних розладів шляхом впровадження у медичну практику інноваційних лікарських засобів на основі 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-ону (атристаміну).

Доповнено, систематизовано та узагальнено наукові дані щодо психо- та нейротропних властивостей 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів, виявлено зв'язок «хімічна структура – біологічна активність».

Уперше досліджено дозозалежність антидепресивного та антиамнестичного ефектів сполуки-лідера (атристаміну) і встановлено його умовноефективну дозу для поглибленого фармакологічного вивчення. Оцінено динаміку розвитку основного ефекту за багаторазового введення. Досліджено хронофармакологічні аспекти антидепресивної дії, виявлено, що в атристаміну, як і в класичного антидепресанта іміпраміну, її акрофаза припадає на денний і вечірній час доби.

Уперше досліджено можливі механізми дії атристаміну та вірогідні взаємодії з нейромедіаторними системами головного мозку. Шляхом фармакологічного аналізу на відповідних моделях одержано нові наукові дані щодо взаємодії атристаміну з

серотонін-, дофамін- та норадренергічною системами головного мозку.

Уперше визначено спектр супутніх нейротропних ефектів атристаміну, а саме ноотропні, антигіпоксичні, актопротекторні, церебропротекторні та аналгетичні властивості. Визначено особливості впливу досліджуваної сполуки на фази пам'яті (переважний вплив на фази консолідації пам'ятного сліду та його репродукції), просторову пам'ять та ефективність навчання тварин. Показано, що на тлі застосування атристаміну за умов модельної ЧМТ покращуються не тільки поведінкові та когнітивні реакції тварин, а й гістоструктура головного мозку, ймовірно, за рахунок його впливу на системи ПОЛ-АОЗ та енергетичний обмін. Уперше встановлено аналгетичну дію атристаміну на моделі соматичного болю, доведено участь опіоїдергічного та норадренергічного компонентів у її механізмі, але за відсутності у досліджуваної речовини адиктивного потенціалу та здатності викликати фізичну залежність.

Запропоновано вдосконалення методичних підходів при експериментальному дослідженні здатності хімічних речовин викликати фізичну залежність, яке полягає в обов'язковому формуванні додаткової групи тварин задля контролю власних нейротропних ефектів індуктора абстиненції (налоксону для опіоїдергічних сполук).

Виявлено антиалкогольну дію атристаміну, його модулювальний вплив на поведінкові ефекти кофеїну, відсутність у нього проконвульсивних властивостей та здатності потенціювати пригнічувальну дію барбітуратів.

Методами *in silico* одержано цілковито нові наукові дані щодо вірогідних мішеней атристаміну в нейромедіаторних системах, які можуть бути залучені до механізмів як основного, так і супутніх фармакологічних ефектів, а також можливих шляхів біотрансформації досліджуваної сполуки в організмі людини.

Уперше визначено гостру токсичність атристаміну за внутрішньошлункового введення на двох видах тварин (LD_{50} дорівнює 6133±568 мг/кг для мишей та 4164±309 мг/кг для щурів, що відповідає IV-V класам токсичності). Доведено безпеку досліджуваної речовини за тривалого багаторазового введення.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані в дисертаційній роботі результати експериментально обґрунтовують можливість підвищення ефективності та безпечності лікування депресивних розладів шляхом впровадження у медичну практику лікарських препаратів на основі інноваційного активного фармацевтичного інгредієнта 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону як антидепресанта з ноотропними, церебропротекторними, антигіпоксичними, актопротекторними та аналгетичними властивостями та низькою токсичністю.

Інформаційним листом про нововведення у сфері охорони здоров'я № 55-2020 «Інноваційні перспективи впровадження у медичну практику 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону як сполуки, що чинить антидепресивну та ноотропну активності» продемонстровано перспективи впровадження атристаміну як перспективного антидепресанта з ноотропними властивостями. Патентом України на винахід № 102900 «Застосування 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону як засобу антигіпоксичної, актопротекторної та антиалкогольної дії» (27.03.2013 р.) висвітлено вперше виявлені супутні нейротропні властивості атристаміну.

Удосконалено методичні підходи до вивчення здатності хімічних речовин викликати фізичну залежність, що узагальнено в методичних рекомендаціях

«Методичні рекомендації з експериментального вивчення адиктивного потенціалу хімічних речовин та їх здатності викликати фізичну залежність».

Результати роботи використано ПАТ «ХФЗ «Червона зірка», який планує розробку та впровадження у виробництво пероральної лікарської форми для лікування депресивних розладів на основі інноваційного активного фармацевтичного інгредієнта 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону під умовною назвою «Атристамін» (акт впровадження № 223/1 від 05.02.2020 р.).

Результати впроваджено в науковий процес відділу фармакокінетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (протокол № 1 від 02.01.2019 р.) та в науково-педагогічний процес кафедр фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 8 від 17.01.2020 р.), фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 7 від 21.02.2020 р.), клінічної фармакології та клінічної фармації Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол № 98 від 16.01.2020 р.), фармакології ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол № 7 від 20.12.2019 р.), фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету (з 09.01.2020 р.), експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Української медичної стоматологічної академії (протокол № 11 від 14.01.2020 р.).

Особистий внесок здобувача. Автор особисто провів патентно-інформаційний пошук, самостійно здійснив аналіз даних літератури з досліджуваної проблеми, обґрунтував актуальність проблеми. За допомоги наукового консультанта д. мед. н., проф. С. Ю. Штриголя визначено напрями та обсяг експериментальних досліджень, сплановано етапи їх виконання, обговорено результати, опубліковано наукові праці у співавторстві. Автор самостійно виконав експериментальну частину, математичну та статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, їх систематизацію, сформулював основні положення і висновки дисертаційної роботи, підготував матеріали до друку та впровадження. Співавторами статей є науковий консультант та фахівці, які брали участь у виконанні окремих досліджень: В. О. Зубков, І. С. Гриценко, В. В. Цивунін, Д. В. Литкін, Ю. Б. Лар'яновська, Н. В. Бездітко, В. Ф. Осташко, Д. П. Каврайський. Особистий внесок конкретизовано у списку публікацій за темою дисертації.

Дослідження вмісту моноамінів у гомогенатах головного мозку мишей проведено методом імуноферментного аналізу на кафедрі медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету за участі та консультативної допомоги асист. О. В. Савельєвої. Гістологічні та морфометричні дослідження проведено за участі та консультативної допомоги к. біол. н., ст. н. співроб. Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ Ю. Б. Лар'яновської. Визначення показників крові та сечі, а також біохімічні дослідження виконано за участі та консультативної допомоги к. біол. н., заступника директора Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ Д. В. Литкіна. Дослідження методом молекулярного докінгу здійснено за консультативної допомоги д. фарм. н., проф., зав. кафедри медичної хімії НФаУ Л. О. Переходи. Дисертант вдячний усім науковцям за співпрацю та консультативну допомогу.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 10–12 жовтня 2011 р.), II Международной научно-практической конференции молодых ученых «Научные стремления – 2011» (Минск, 14–18 ноября 2011 г.), III з'їзді токсикологів України «Сучасні проблеми токсикології» (Київ, 18–19 грудня 2011 р.), Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 90-летию Отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова Института экспериментальной медицины СЗО РАМН «Фармакологическая нейропротекция» (Санкт-Петербург, 18–21 сентября 2013 г.), III Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, 9–10 декабря 2015 г.), III Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих вчених «BIMCO-2016» (Чернівці, 6–8 квітня 2016 р.), 40-вій ювілейній науково-практичній конференції молодих вчених НМАПО ім. П. Л. Шупіка з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (Київ, 18 травня 2017 р.), V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12–13 квітня 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (до 50-річчя заснування ЗДМУ) (Запоріжжя, 30 травня 2018 р.), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Вікові та хронобіологічні аспекти медицини і фармації» (Чернівці, 4–5 жовтня 2018 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 19–20 вересня 2019 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 37 наукових робіт, у т. ч. 22 статті в наукових спеціалізованих виданнях (з них 13 статей у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 7 – у профільних закордонних журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз, та 2 – в інших наукових виданнях), 12 тез доповідей, 1 патент України на винахід, 1 інформаційний лист, 1 методичні рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 484 сторінках машинописного тексту, складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, 9 розділів, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 281 сторінку. Робота ілюстрована 68 таблицями, 49 рисунками. Список використаних джерел містить 659 найменувань, із них 67 кирилицею та 592 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Робота виконана на базі кафедри фармакології та ЦНДЛ НФаУ, яка атестована МОЗ на право проведення вимірювань, що знаходяться в сфері державного метрологічного нагляду України (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до 07.12.2019 р.). Дизайн дослідження наведено на рис. 1.

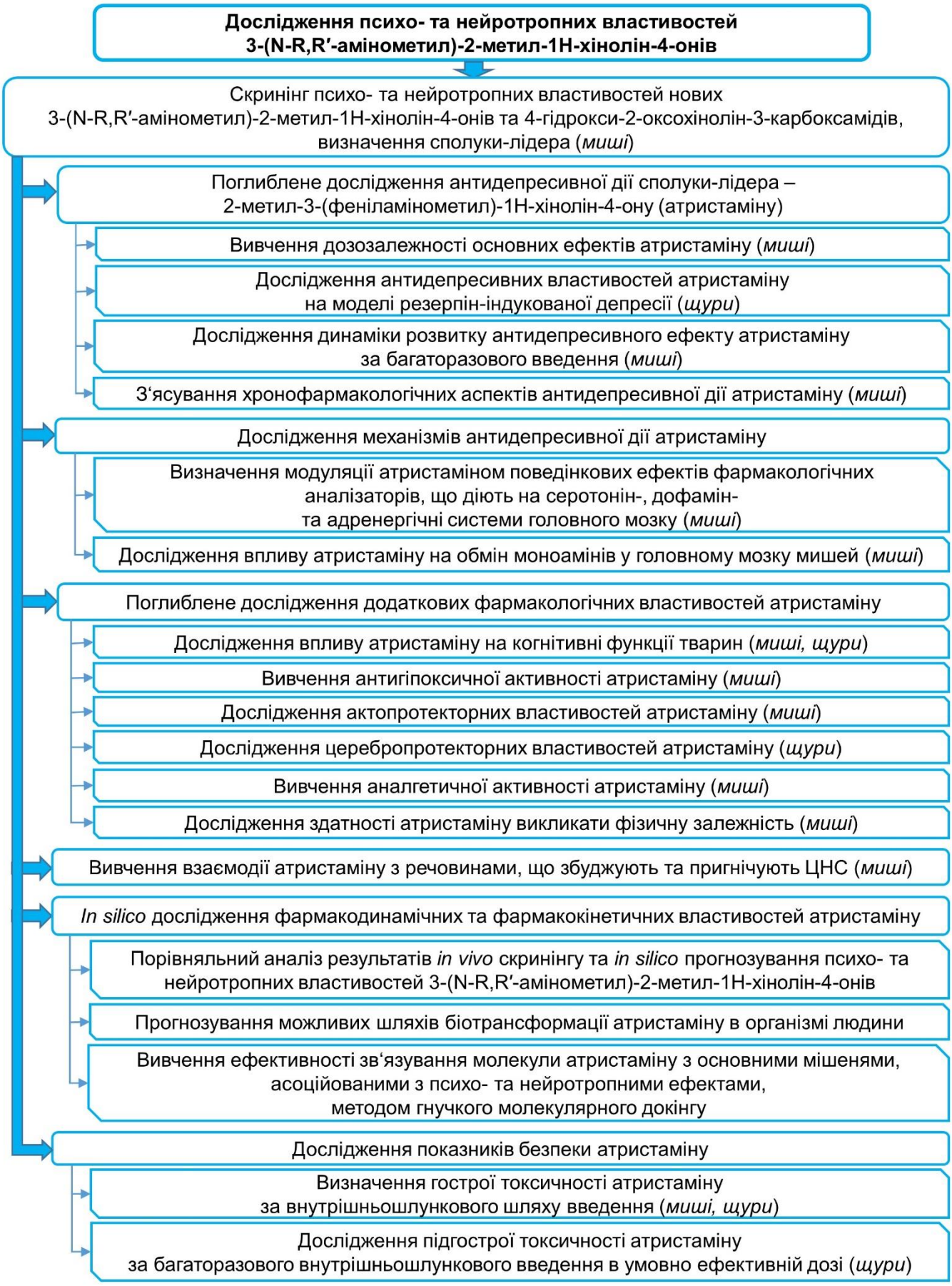

Рис. 1 Дизайн дослідження

Досліди проведено на 1205 білих мишах та 233 білих щурах із дотриманням чинних вітчизняних та міжнародних біоетичних вимог щодо роботи з тваринами, що засвідчено висновками комісії НФаУ з біоетики (протоколи № 11 від 18.11.2015 р., № 2 від 04.11.2019 р.). Під час процедур, що викликали біль або страждання тварин, застосовували адекватну анестезію (тіопентал натрію, 50-60 мг/кг).

Практично в усіх дослідах формували групи синхронного інтактного контролю (ІК) – тварин, яких аналогічно дослідним групам піддавали втручанням із введення розчинника замість досліджуваних сполук та речовин-індукторів патологічних станів. У разі необхідності використано групи контрольної патології (КП), тварини яких одержували розчинник замість тест-зразків та референс-препаратів. Деякі методики вимагали формування додаткових груп тварин: при дослідженні адиктивного потенціалу – група контролю ефектів налоксону (для виявлення власних ефектів антагоніста опіоїдних рецепторів). Усі поведінкові тести з урахуванням хронофармакологічного чинника проводили синхронно з відповідним контролем.

Характеристика досліджуваних сполук, референс-препаратів та хімічних аналізаторів. Для скринінгу використано 10 нових 3-N-R,R′-амінометилзаміщених похідних хінолін-4-онів, синтезованих д. фарм. н., доц. В. О. Зубковим з урахуванням виявленого у попередніх дослідженнях (І. М. Подольський, 2009) зв’язку «хімічна структура – фармакологічна активність», та 4 похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів, одержаних д. хім. н., проф. І. В. Українцем. Будову синтезованих речовин підтверджено методом ^{1}H ЯМР-спектроскопії, чистоту – тонкошаровою хроматографією. Хімічні формули досліджуваних сполук, загальна кількість яких становить 15, наведено на рис. 2.

Усі серії сполуки-лідера за узагальненими результатами скринінгових досліджень – 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону (лабораторна назва «Атристамін», АТР), що використовували в дисертаційному дослідженні, стандартизували згідно з розробленим проєктом МКЯ (І. М. Подольський, 2009). Досліджувані речовини з урахуванням їх фізико-хімічних властивостей вводили внутрішньошлунково (в/ш) за допомогою атравматичного зонду у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої Твіном-80.

Використано такі препарати порівняння: іміпрамін (IMI) («Меліпрамін®», розчин для ін’єкцій 25 мг/2 мл, ЗАТ Фармацевтичний завод ЕГІС, Угорщина) – внутрішньоочеревинно (в/о) у дозі 25 мг/кг (A. A. Chowdhury, A. R. Juvekar, 2014); пірацетам (ПІР) («Пірацетам», розчин для ін’єкцій 200 мг/мл, «Дарниця», «Артеріум», Україна) – в/о або в/ш у дозах 200 мг/кг, 300 мг/кг та 400 мг/кг (О. В. Шатілов, 2014; A. A. Chowdhury, A. R. Juvekar, 2014; O. M. E.Abdel-Salam et al., 2016); мелатонін (МЕЛ) («Віта-Мелатонін®», таблетки по 3 мг, АТ «Київський вітамінний завод», Україна) – в/ш у дозі 5 мг/кг (E. Czarnecka et al., 1999) у вигляді суспензії таблеткової маси; метамізол натрій (МЕТ) («Анальгін-Здоров’я», розчин для ін’єкцій 500 мг/мл, ЗТ «Здоров’я», Україна) – в/о у дозі 500 мг/кг (W. Pakulska, E. Czarnecka, 2009); фенібут (ФЕН) (субстанція) – в/о у дозі 20 мг/кг (I. Lapin, 2001); етилтіобензімідазол (ЕТБ) (субстанція) – в/о у дозі 50 мг/кг (Е. Н. Стратиенко, 2003).

Фармакологічні тести та досліджувані показники. Вплив речовин на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку активність, емоційні реакції та їх вегетативний супровід у мишей та щурів досліджували в тесті відкритого поля (ВП)

(А. Н. Миронов, 2012). Упродовж 3 хв реєстрували кількість перетнутих квадратів, обстежених отворів, вертикальних стійок, актів грумінгу, фекальних болюсів, уринацій. Розраховували суми показників орієнтовно-дослідницької активності, емоційних реакцій та їх вегетативного супроводу, суму всіх видів активності.

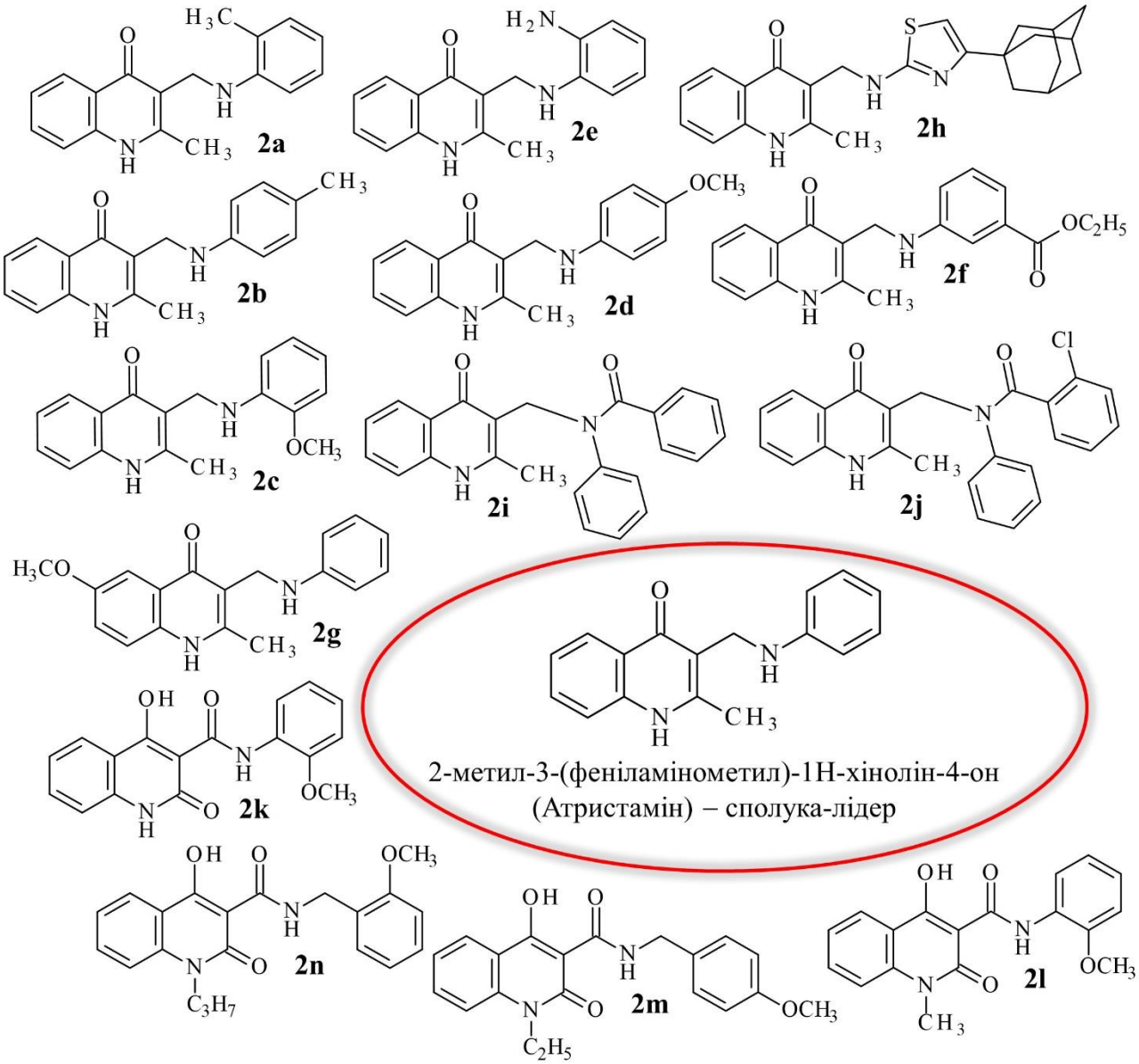

Рис. 2 Структурні формули досліджуваних 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів та похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів

При дослідженні антидепресивних властивостей сполук на моделі «поведінки відчаю» в іммобілізаційному тесті Порсолта (ІТП) мишей фіксували до штативу за кінчик хвоста лейкопластирем (H. G. Vogel, 2008; R. D. Porsolt, A. Lenegre, 1992). Упродовж 6 хв реєстрували основний показник тесту (тривалість іммобільності тварини – нерухоме зависання у специфічній позі) та додаткові – латентний час першого епізоду іммобільності, кількість епізодів. Розраховували середню тривалість одного епізоду іммобільності та антидепресивну активність (АдА) за формулою:

$$АдА, \% = (T_{ІК} - T_{Д}) / T_{ІК} \times 100 \%,$$

де АдА – антидепресивна активність; $T_{ІК}$ – час іммобільності тварин у групі ІК; $T_{Д}$ – час іммобільності тварин на тлі відповідного тест-зразка.

Вплив на депресивність щурів визначали у плавальному тесті Порсолта (ПТП) (J. J. Buccafusco, 2009). За поведінкою тварини спостерігали протягом 6 хв, реєструючи загальний час іммобільності (перебування у нерухомому стані).

Вплив на тривожність у мишей та щурів визначали в тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту (ПХЛ) (H. G. Vogel, 2008). Протягом 5 хв реєстрували латентний час входу до темного рукава, кількість відвідувань темних та світлих рукавів, центрального майданчика, кількість фекальних болюсів та уринацій. Вираховували сумарний час перебування в освітлених та темних частинах лабіринту та в «зоні прийняття рішення», кількість переходів між рукавами.

Вплив на м’язовий тонус та координацію рухів у мишей вивчали за допомогою ротарод-тесту (В. В. Гацура, 1974). Критерієм оцінки обрано час утримання тварин на стрижні та кількість мишей, що за певні проміжки часу впали з нього. Тест «Вертикальний сітчастий екран» (ВСЕ) (T. Tatlisumak, M. Fisher, 2006) використано для оцінки координації рухів, м’язового тонусу та сили кінцівок щурів. Тварину розміщували на металевому сітчастому екрані, останній переводили у вертикальне положення та реєстрували час утримання щура на ньому (с).

Вплив сполук на пам’ять досліджували в тесті умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) на тлі антероградної амнезії, викликаної введенням розчину скополаміну гідроброміду в/о в дозі 1,5 мг/кг (А. Н. Миронов, 2012; R. Agrawal et al., 2009). У фазі навчання мишей розміщували на освітленій платформі приладу та за допомогою секундоміра реєстрували латентний період безумовного рефлексу – входу до темної камери, де тварин піддавали дозованому впливу електричного струму. Через 24 год вдруге визначали латентний період входу до затемненої камери приладу. Антиамнестичну активність (АаА) розраховували за формулою:

$$\text{АаА}, \% = [(\Delta\text{ЛПд} - \Delta\text{ЛПск}) / (\Delta\text{ЛПік} - \Delta\text{ЛПск})] \times 100\%,$$

де АаА – антиамнестична активність; ΔЛПск і ΔЛПд – середній приріст латентного періоду у тварин, яким вводили відповідно тільки скополамін і скополамін на тлі досліджуваної сполуки; ΔЛПік – середній приріст латентного періоду в тварин групи контролю навчання.

Влив на когнітивні процеси щурів у гострій стресовій ситуації досліджували в тесті екстраполяційного вивільнення (ЕВ) (М. А. Самотруева и др., 2009). Визначали час результативного піднирювання під нижній край циліндра (вирішення завдання вивільнення) та кількість щурів, що вивільнились у кожній групі.

Вплив на пам’ять щурів та їх здатність до навчання досліджено за допомогою тесту «Водний лабіринт Морріса» (ВЛМ) (G. L. Wenk, 2004). Тварин тренували у ВЛМ протягом двох навчальних сесій, які проводилися раз на день протягом двох днів поспіль. Через 24 год після другого тренінгу проводилось «тестове випробування» для оцінки стійкості пам’ятного сліду просторового розташування платформи. Для цього воду спеціально закаламучували за допомогою сухого молока, а платформу заглиблювали до рівня поверхні води (R. D'Hooge, P. P. De Deyn, 2001). Відеотрекінг здійснювали за допомогою відеокамери. Параметри навігації аналізували за допомогою програмного забезпечення Noldus EthoVision XT 14 (L. P. J. J. Noldus et al., 2001). Основними показниками були час та дистанція плавання до порятунку, швидкість та звивистість траєкторії плавання; час, проведений у

кожному з квадрантів, частота появи у квадрантах. Додатково обчислювали відсоток часу, проведеного у кожному квадранті, та середню тривалість одного перебування.

Нормобаричну гіпоксичну гіпоксію з гіперкапнією (НГГГ), яку застосовували для оцінки антигіпоксичних властивостей досліджуваних речовин, моделювали у мишей за допомогою гермокамер об'ємом 200 $см^3$ (А. Н. Миронов, 2012). Після розміщення тварини в камері останню герметично закривали та визначали тривалість життя (хв) до агонального вдиху. Гостру гіпобаричну гіпоксію (А. Н. Миронов, 2012) у мишей відтворювали в барокамері шляхом зниження тиску, що імітувало «піднімання» тварин зі швидкістю 50 м/с на висоту 11000 м; визначали тривалість життя (с) від початку «підйому» до агонального вдиху. Гостру гемічну гіпоксію (Л. Н. Сернов, В. В. Гацура, 2000) моделювали введенням мишам розчину натрію нітриту в/о в дозі 200 мг/кг (О. В. Стефанов, 2001), реєстрували тривалість життя тварин (хв) від моменту введення метгемоглобінутворювача.

З метою дослідження фізичної витривалості тварин застосовували тест плавання з навантаженням (ПЗН) (А. Н. Миронов, 2012). Вантаж (10 % від маси тіла) закріплювали на корені хвоста тварини, яку надалі приміщували в басейн. Реєстрували час плавання до повного виснаження, критерієм якого було занурення голови щура або миші під воду з неможливістю спливти на поверхню протягом 10 с.

Феномен «струшування голови» у мишей індукували в/о введенням 5-гідрокситриптофану в дозах 50 мг/кг та 300 мг/кг (S. G. Corne et al., 1963). Після введення аналізатора або розчинника кожну тварину приміщували в індивідуальний прозорий бокс і підраховували кількість специфічних струшувань голови протягом 1 хв у моменти часу 10, 20, 30, 40, 50 та 60 хв після введення попередника серотоніну. Каталепсію у мишей індукували в/о введенням галоперидолу в дозі 1 мг/кг (K. Hattori et al., 2006) та досліджували тварин за допомогою стандартного «тесту з перекладиною» (bar-test) з 30-хвилинними інтервалами, починаючи через 30 хв після ін'єкції галоперидолу (А. Н. Миронов, 2012). Вимірювали тривалість часу, протягом якого кожна тварина утримувала початкове положення. Стан гіперактивності індукували в/о введенням мишам L-діоксифенілаланіну (L-ДОФА) у дозах 100 мг/кг та 500 мг/кг (D. Suresh et al., 2014). Одразу після введення аналізатора тварин приміщували у прозорі циліндри по 2 тварини. Рівень активності та поведінку тварин визначали за бальною системою оцінювання кожні 15 хв протягом 90 хв після ін'єкції L-ДОФА (D. Suresh et al., 2014). Основні параметри – пілоерекція, гіперсалівація, екзофтальм та гіперактивність. Кожен феномен оцінювали за бальною шкалою: 0 – не спостерігається; 1 – незначно; 2 – помірно; 3 – виразно. Розраховували суму балів у кожній часовій точці для кожної тварини як загальний показник її стану. Агресивну поведінку в мишей індукували клонідином у дозі 10 мг/кг в/о (R. J. Nelson, 2006). Одразу після введення аналізатора пари тварин приміщували у скляні циліндри та спостерігали за ними протягом 1 год. Реєстрували латентний час першої атаки. Агресивну поведінку характеризували за кількістю атак з укусами поміж мишами кожної пари протягом 1 год (C. Morpurgo, 1968). При дослідженні депресивної поведінки мишей, спричиненої клонідином, аналізатор вводили в/о в дозі 0,5 мг/кг (D. J. Heal et al., 1983). Через 60 хв після ін'єкції клонідину поведінку тварин досліджували в тесті ВП.

З метою моделювання вісцерального болю (оцтовокислі корчі, ОК) мишам

вводили в/о 0,7 % розчин оцтової кислоти (G. C. Hokanson, 1978). Для кожної тварини, починаючи з 15 хв після введення оцтової кислоти, протягом 30 хв підраховували кількість абдомінальних скорочень і розгинань тулуба та задніх кінцівок (корчів). Аналгетичну активність (АА) розраховували за формулою:

$$АА, \% = (М_{КП} – М_{Д}) / М_{КП} \times 100 \%,$$

де АА – аналгетична активність; $М_{КП}$ – кількість корчів, зареєстрованих у групі КП; $М_{Д}$ – кількість корчів, зареєстрованих на тлі відповідного тест-зразка.

На моделі соматичного болю в мишей (теплова іммерсія хвоста, ТІХ) (P. A. G. Janssen et al., 1963) занурювали дистальні 2 см хвоста у водяну баню з постійною температурою (+60 °С), реєстрували час реакції висмикування (с).

Характеристика моделей та дизайн дослідів. Скринінг 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів та похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів проводили на білих нелінійних мишах у дозах 10 та 100 мг/кг із використанням тестів ВП, ПХЛ, ротарод-тесту, ІТП та УРПУ на тлі скополамін-індукованої амнезії. Протокол експериментів було гармонізовано з попередніми дослідженнями (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010). Наприкінці скринінгу досліджували вплив речовин на тривалість життя мишей на моделі НГГГ.

Для поглибленого дослідження антидепресивної активності АТР обрано модель резерпін-індукованої депресії у щурів (А. Н. Миронов, 2012). АТР у дозах 10 та 100 мг/кг, а також референс-препарат ІМІ у дозі 25 мг/кг уводили тричі один раз на добу, востаннє – за 30 хв до в/о ін’єкції резерпіну в дозі 4 мг/кг (А. Н. Миронов, 2012). Безпосередньо перед останнім введенням тест-зразків тварин досліджували в тесті ВП для визначення вихідних показників та вимірювали ректальну температуру. Через 4 год після ін’єкції резерпіну повторно визначали ректальну температуру щурів та ступінь блефароптозу за ранговою шкалою від 1 до 4. Одразу після цього поведінку тварин повторно досліджували в тесті ВП.

Визначення умовно ефективної дози АТР проводили в тестах ІТП та УРПУ в дозах 5, 50, 100 та 150 мг/кг, що при зіставленні з результатами скринінгового дослідження (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010) дозволило виявити зв’язок активності з кількістю введеної речовини в широкому діапазоні доз.

Динаміку розвитку антидепресивного ефекту АТР (100 мг/кг в/ш) досліджено в тесті ІТП за багаторазового введення. Показники депресивності тварин визначали на 1, 4, 7, 10 та 14 день експерименту через 60 хв після введення речовин.

Варіативність впливу АТР (100 мг/кг в/ш) у порівнянні з ІМІ (25 мг/кг в/о) на депресивність мишей з урахуванням хронофізіологічних чинників вивчали в тесті ІТП. Експеримент проведено навесні (у травні). У межах однієї доби виконано 4 досліди в такі часові інтервали: 2:00-4:00, 8:00-10:00, 14:00-16:00, 20:00-22:00. Тест-зразки вводили одноразово за 60 хв до початку тестування. За допомогою програми «Cosinor-Analisis 2.4 for Excel 2000/XP» визначали мезори, амплітуди, акрофази та батіфази всіх показників, а також розраховували відповідні хронограми.

При вивченні впливу на серотонін-, дофамін- та адренергічну системи головного мозку мишей з використанням феномену «струшування голови», викликаного 5-гідрокситриптофаном, галоперидол-індукованої каталепсії, L-ДОФА-індукованої гіперактивності, агресії та депресивної поведінки, спричинених

клонідином, фармакологічний аналізатор уводили через 60 хв після одноразового введення АТР (100 мг/кг в/ш) або розчинника. На моделі клонідин-індукованої агресії як референс-препарат використовували ІМІ (25 мг/кг в/о).

Вплив АТР (100 мг/кг в/ш) та препаратів порівняння ПІР (200 мг/кг в/о) та ІМІ (25 мг/кг в/о) на вміст церебральних моноамінів у гомогенаті головного мозку мишей досліджували методом імуноферментного аналізу. На імуноферментному аналізаторі Stat Fax® 303 Plus (США) з використанням стандартних наборів Serotonin-ELISA та TriCat-ELISA (IBL International, Німеччина) кількісно визначали вміст серотоніну, дофаміну, норадреналіну та адреналіну.

Для з'ясування впливу АТР (100 мг/кг в/ш) та референс-препарату ПІР (200 мг/кг в/ш) на фази пам'яті застосовували тест УРПУ на тлі скополамін-індукованої амнезії. Тест-зразки вводили одноразово за 60 хв до навчання (вплив на І фазу пам'яті – увід та первинну обробку інформації), одразу після процедури навчання (вплив на ІІ фазу пам'яті – консолідацію пам'ятного сліду) або за 30-40 хв перед відтворенням УРПУ через 24 год (вплив на ІІІ фазу – репродукцію інформації).

Вплив АТР (100 мг/кг в/ш) та референс-препаратів ПІР (300 мг/кг в/о) та ФЕН (20 мг/кг в/о) на пам'ять щурів та їх здатність до навчання досліджували в тесті ВЛМ. Тест-зразки вводили за 1 год до навчальних сесій, які проводили раз на день протягом двох днів поспіль, та «тестового випробування» на третій день.

Актопротекторну активність АТР (100 мг/кг в/ш) визначали в порівнянні з модель-специфічним референс-препаратом ЕТБ (50 мг/кг в/о) в тесті ПЗН.

Дослідження церебропротекторних властивостей АТР проведено на моделі черепно-мозкової травми (ЧМТ) легкого ступеня у щурів. ЧМТ відтворювали під легким ефірним наркозом дозованим ударом по тім'яно-потиличній ділянці вантажем масою 0,05 кг, що вільно падає по вертикальному каналу з висоти 0,5 м (енергія удару дорівнювала 0,294 Дж) (В. Н. Ельский, С. В. Зяблицев, 2008).

Вплив АТР (100 мг/кг в/ш) та референс-препарату ПІР (400 мг/кг в/ш) на стан щурів після ЧМТ досліджували в поведінкових тестах: ВП, ПХЛ, ВСЕ, ЕВ, ПТП та ПЗН. Неврологічний дефіцит оцінювали за шкалою McGraw у модифікації І. В. Ганнушкіної (И. В. Ганнушкина, 1996; C. P. McGraw et al., 1976). Перед моделюванням ЧМТ визначали вихідні показники в зазначених тестах. Тест-зразки вводили за 30 хв до ЧМТ та протягом наступних двох днів за 30 хв до досліду.

Матеріал для гістологічних досліджень церебропротекторної активності АТР (100 мг/кг в/ш) та ПІР (400 мг/кг в/ш) відбирали на ІІІ добу після відтворення ЧМТ за описаною вище методикою. Тест-зразки вводили за 30 хв до індукції ЧМТ та раз на добу протягом наступних двох днів. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, тіоніном за методом Ніссля (Г. А. Меркулов, 1969). Досліджували сенсомоторну кору (СМК) великих півкуль головного мозку та кору мозочку щурів. На мікропрепаратах, окрім якісної оцінки стану тканин мозку, проводили морфометричні виміри. Мікропрепарати вивчали під світловим мікроскопом Granum, мікроскопічні зображення фотографували цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли за допомогою програми Toup View.

Характер впливу АТР (100 мг/кг в/ш) та референс-препарату ПІР (400 мг/кг в/ш) на баланс ПОЛ-АОЗ та пов'язані показники енергетичного обміну в головному мозку щурів з'ясовували на ІІІ добу після ЧМТ. Тест-зразки вводили за 30 хв до

індукції ЧМТ та раз на добу протягом наступних двох днів. У гомогенатах за загальноприйнятими спектрофотометричними методами кількісно визначали: піровиноградну кислоту (В. С. Камышников, 2009), дієнові кон'югати (И. А. Волчегорский и др., 1989), вторинні продукти ліпопероксидації – за реакцією малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою (И. Д. Стальная, Т. Т. Гаришвили, 1977), продукти окисної модифікації білків (А. В. Арутюнян и др., 2000). Активність каталази визначали за швидкістю деградації пероксиду гідрогену внаслідок його реакції з амонію молібдатом (М. А. Королюк и др., 1988), супероксиддисмутази – за інгібуванням автоокиснення адреналіну (А. В. Арутюнян и др., 2000), сукцинатдегідрогенази – за відновленням калію фериціаніду (М. И. Прохорова, 1982). Вміст відновленого глутатіону визначали за реакцією з реактивом Елмана (М. И. Прохорова, 1982). Фотометричні виміри здійснювали за допомогою спектрофотометра СФ-26 та колориметра-нефелометра КФК-2МП.

На моделі ішемії головного мозку, викликаної білатеральною каротидною оклюзією в щурів, АТР (100 мг/кг в/ш) уводили профілактично, востаннє – за 30 хв до оперативного втручання, яке проводили під загальною анестезією. За тваринами спостерігали протягом 5 наступних днів. Реєстрували смертність, а неврологічний дефіцит щурів, що вижили, оцінювали за шкалою McGraw (C. P. McGraw et al., 1976).

Аналгетичні властивості АТР (100 мг/кг в/ш) і референс-препаратів МЕТ (500 мг/кг в/о) та ІМІ (25 мг/кг в/о) досліджували на моделях ОК та ТІХ у мишей. У тесті ОК тест-зразки вводили одноразово за 45 хв до в/о введення розчину оцтової кислоти. Тест ТІХ проводили в 4 часових точках з інтервалом 30 хв. Участь опіоїдергічної та адренергічної ланок антиноцицептивної системи в аналгетичному ефекті АТР (100 мг/кг в/ш) вивчали на моделі ТІХ шляхом фармакологічного аналізу з використанням антагоніста опіоїдних рецепторів налоксону (5 мг/кг в/о) (А. Н. Миронов, 2012), а також клонідину (0,1 мг/кг в/о) (Y. F. Chen et al., 2002) та пропранололу (4 мг/кг в/о) (Д. П. Каврайський та ін., 2016) як адренотропних речовин. Дослідження проводили в 5 часових точках з інтервалом 30 хв.

З метою вдосконалення методичних підходів до експериментального вивчення здатності опіоїдергічних сполук викликати фізичну залежність досліджено власні поведінкові та нейротропні ефекти індуктора абстиненції налоксону, який надалі застосовували при дослідженні адиктивного потенціалу АТР. Експеримент проводили у два етапи. У перший день тварини трьох груп в/ш одержували відповідний об'єм води очищеної, після чого їх досліджували в тесті ВП та ротарод-тесті. Наступного дня в той же час мишей зважували та вводили їм в/ш аналогічну кількість води очищеної, а через 20 хв тваринам двох піддослідних груп в/о вводили налоксон у дозах 5 або 10 мг/кг. Протягом 30 хв після ін'єкції налоксону спостерігали за станом мишей, після чого досліджували в тесті ВП та ротарод-тесті. Наприкінці експерименту кожну тварину повторно зважували. Здатність АТР викликати фізичну залежність визначали у мишей, яким його вводили в/ш у дозі 100 мг/кг протягом 14 днів, за комбінованим варіантом експерименту, як описано у спеціально створених за участі дисертанта методичних рекомендаціях (С. Ю. Штриголь та ін., 2019).

Здатність АТР (100 мг/кг в/ш) потенціювати депримувальний вплив на ЦНС речовин пригнічувального типу дії оцінювали на мишах за взаємодією окремо з етанолом (12,5 % розчин, 5,5 г/кг в/о) (А. Н. Миронов, 2012) та тіопенталом натрію

(60 мг/кг в/о) (R. E. Fish et al., 2008). Визначали кількість тварин, що впали до наркотичного сну, латентний період настання бічного положення та тривалість наркозу від зникнення до відновлення рефлексу перевертання (А. Н. Миронов, 2012). Взаємодію АТР (100 мг/кг в/ш) з речовинами, що збуджують ЦНС, вивчали на моделях судом, викликаних уведенням тіосемікарбазиду (25 мг/кг п/ш) та стрихніну нітрату (1,2 мг/кг п/ш) мишам через 1 год після введення речовини (М. Я. Головенко, Л. О. Громов, 2003). Взаємодію АТР (100 мг/кг в/ш) з кофеїном досліджено в тесті ВП. Кофеїн-бензоат натрію вводили в дозі 50 мг/кг в/о (M. El Yacoubi et al., 2000) через 30 хв після введення АТР або розчинника та за 30 хв до початку тесту ВП.

Методи комп'ютерного прогнозування та моделювання. Розрахункові параметри молекул (молярна маса, кількість донорів та акцепторів водневих зв'язків, частка sp^3-гібридизованих атомів, топологічна площа полярної поверхні, pKa, clogP та clogS) обраховували за допомогою онлайн-сервісу Chemicalize (ChemAxon). Прогнозування спектру біологічних властивостей 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів було проведене ретроспективно за допомогою онлайн-системи PASS Online. З метою *in silico* дослідження можливих напрямків біотрансформації АТР в організмі людини використовували такі онлайн веб-сервіси: Xenosite P450 Metabolism 1.0, Xenosite UGT 2.0, Way2Drug SOMP, Way2Drug RA.

Для рецепторно-орієнтованого гнучкого докінгу молекули АТР з урахуванням можливої таутомерії використовували пакет програм Autodock 4.2. Як біологічні мішені для докінгу було обрано активні центри таких макромолекул з Protein Data Bank: транспортер серотоніну (SERT, PDB ID: 5I6X), транспортер дофаміну (DAT, PDB ID: 4M48), транспортер лейцину (LeuTAA, PDB ID: 2A65), дофаміновий D_2 рецептор (D2R, PDB ID: 6CM4), серотоніновий 5-HT_{1B} рецептор (5-HT1BR, PDB ID: 5V54), серотоніновий 5-HT_{2A} рецептор (5-HT2AR, PDB ID: 6A94), серотоніновий 5-HT_{2B} рецептор (5-HT2BR, PDB ID: 6DRX), серотоніновий 5-HT_{2C} рецептор (5-HT2CR, PDB ID: 6BQH). Для кожної мішені додатково проводили докінг молекул відповідних інгібіторів (для транспортерів), агоністів і антагоністів (для рецепторів). Підготовку лігандів здійснювали за допомогою програми MGL Tools 1.5.6, оптимізували за допомогою програми Avogadro. Вихідні формати даних лігандів і рецепторів конвертували у формат PDBQT. Мапи рецепторів готували в програмах MGL Tools та AutoGrid. З вихідних файлів PDB було видалено іони, ліганд і молекули води. Показники ефективності зв'язування лігандів з мішенями – скорингова функція (Affinity dG), вільна енергія зв'язування (EDoc, ккал/моль) та константа інгібування (Ki, мкмоль). Характер та кількість зв'язків, що утворюються між лігандом та активним сайтом макромолекули, аналізували візуально за допомогою 2D-діаграм та 3D-моделей, побудованих за допомогою програми Discovery Studio Visualizer.

Дослідження показників безпеки. Гостру токсичність АТР визначали на двох видах тварин за методом В. Б. Прозоровського (В. Б. Прозоровский, 1998). Мишам-самцям масою 18-20 г АТР уводили одноразово в/ш у дозах 4000 мг/кг, 6000 мг/кг та 8000 мг/кг, щурам-самцям масою 160-190 г – у дозах 1100, 2100, 3100, 4100 та 5100 мг/кг. В обох експериментах за тваринами спостерігали протягом 14 діб та реєстрували виживаність, споживання їжі та води, клінічні прояви інтоксикації тощо. Розраховували показники LD_{50}, LD_{16} та LD_{84}, а також визначали клас токсичності досліджуваної сполуки (H. C. Hodge, J. H. Sterner, 1956).

Підгостру токсичність вивчали на білих нелінійних щурах обох статей віком 3-4 місяці з вихідною масою 150-170 г за повторного в/ш уведення АТР у дозі 100 мг/кг упродовж 28 днів. Протягом усього терміну дослідження спостерігали за виживаністю тварин, споживанням ними їжі та води, а також реєстрували можливі клінічні прояви токсичної дії. Для визначення динаміки маси тіла щурів зважували на 1, 7, 14, 21 та 29 добу експерименту. На 1, 14 та 29 добу експерименту визначали вплив АТР на показники функціонального стану ЦНС (тест ВП) та координацію рухів і м'язовий тонус (ротарод-тест). На 27 добу досліджували стан міокарда, записуючи ЕКГ у II стандартному відведенні за допомогою приладу ЕК1Т-03М2 під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг, в/о) (П. Х. Джанашия и др., 2003). Після останнього (28-го) введення речовини визначали спонтанний добовий діурез (Э. Ф. Баринов и др., 1987). На 29 добу тварин зважували, досліджували у тесті ВП та ротарод-тесті, після чого виводили з досліду з метою одержання біологічного матеріалу для досліджень. Усіх тварин піддавали розтину, зважували та макроскопічно обстежували внутрішні органи, визначали їх масові коефіцієнти. Для гістологічного дослідження відбирали зразки СМК головного мозку, серця, печінки, нирок, наднирників, селезінки, шлунка, сім’яників або яєчників. Внутрішні органи фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, заливали в целоїдин-парафін. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином (Г. А. Меркулов, 1969). Мікроскопічне дослідження та фотографування мікропрепаратів проводили із застосуванням модульного світлопольного мікроскопа «B-1000BF» («Optika», Італія) із цифровою камерою «Optikam HDMI Pro» («Optika», Італія).

Стан нирок визначали за об’ємом та кольором сечі, її прозорістю, pH, густиною, вмістом білка за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, вмістом глюкози глюкозооксидазним методом. Вимірювали вміст креатиніну за реакцією Яффе (В. В. Долгов, В. В. Меньшиков, 2012) у крові та сечі, швидкість клубочкової фільтрації розраховували за кліренсом ендогенного креатиніну. У крові визначали гемоглобін, вміст еритроцитів, кольоровий показник, вміст лейкоцитів та швидкість осідання еритроцитів. У сироватці крові фотометрично за допомогою відповідних стандартних наборів реактивів (ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) визначали згідно з інструкціями до застосування: вміст сечовини – колориметричним методом, загальний білок – біуретовим методом, вміст альбуміну – за реакцією з бромкрезоловим зеленим, вміст глюкози – глюкозооксидазним методом, активність аспартатамінотрансферази та аланінамінотрансферази – кінетичними методами, вміст загального білірубіну – методом Єндрашика, загального холестерину – ферментативним методом. Використовували напівавтоматичний аналізатор «Map Lab Plus» (BSI, Італія).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням пакету програм STATISTICA 10.0 із розрахунком середнього значення, стандартної помилки середнього, довірчого інтервалу (p). Зважаючи на сучасні підходи до обробки результатів фармакологічних досліджень (А. Н. Миронов, 2012), в окремих випадках обраховували медіани, 25 % та 75 % процентілі. Достовірність відмінностей між групами порівняння оцінювали за параметричним критерієм Стьюдента (t) у випадках нормального розподілу, непараметричним критерієм Манна-Вітні (U) – за його відсутності. Внутрішньогрупові відмінності в динаміці оцінювали за парним

критерієм Вілкоксона (W). При обліку результатів в альтернативній формі використовували кутове перетворення Фішера (φ*). Закономірності зв'язку між окремими показниками аналізували за коефіцієнтом кореляції Пірсона (r).

Результати та їх обговорення. *Скринінгові дослідження психо- та нейротропних властивостей нових 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів та похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів.* Для 3-ариламінометил-заміщених хінолін-4-онів (сполуки 2a-g, 2i та 2j), як і для лідера за попередніми дослідженнями 1a (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010), в обох досліджених дозах характерна висока антиамнестична активність (від 52,3 до 106,4 %) у тесті УРПУ на тлі скополамін-індукованої амнезії (рис. 3). За наявності гетерильного замісника при аміногрупі (сполука 2h) активність у зазначеному тесті була суттєво нижчою. Похідні 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів 2k-n, які досліджено з метою з'ясування ролі гетероциклічного фрагменту та вторинної аміногрупи в структурах 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів у реалізації їх психо- та нейротропних ефектів, також виявили нижчу антиамнестичну активність (від 36,6 до 61,5 %) порівняно з основним рядом сполук.

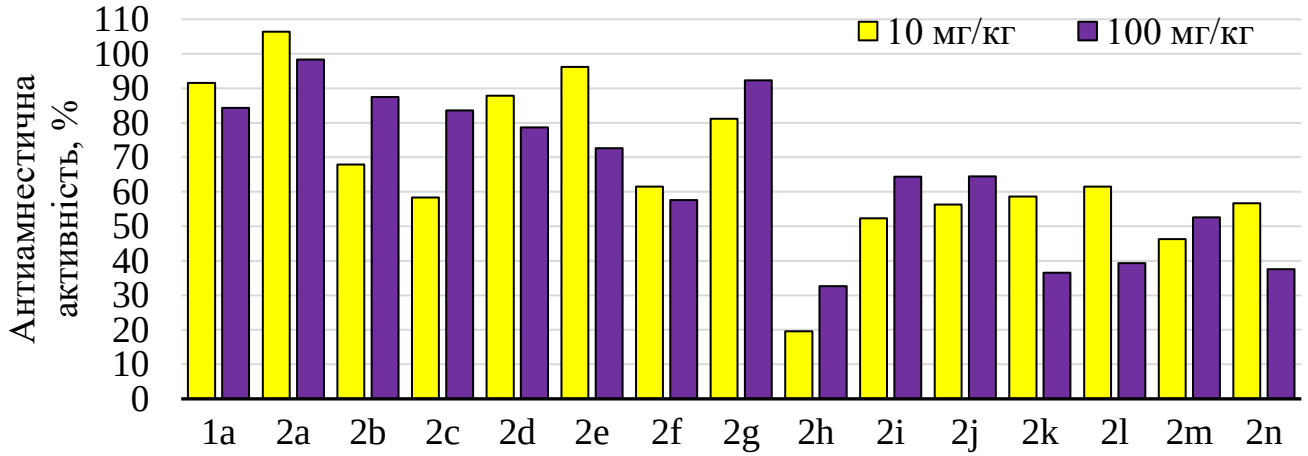

Рис. 3 Антиамнестична активність 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів та похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів у тесті УРПУ на тлі скополамін-індукованої амнезії

Виявлені в тесті ВП поведінкові феномени представників обох досліджуваних рядів сполук свідчать, що вони не є психотропно індиферентними класами речовин. Спрямованість та виразність їх впливу на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку та емоційну складові поведінки тварин у ВП значно залежать від хімічної структури. Найвиразніше виявили себе *пара*-метоксипохідне 2d та 2-метил-6-метокси-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-он 2g. На тлі сполуки 2d у дозі 10 мг/кг спостерігалось трикратне зменшення кількості перетнутих квадратів ($p<0,01$), достовірне зменшення кількості дефекацій ($p<0,05$) і, як результат, двократне зменшення загальної суми всіх активностей ($p<0,01$). Однак ці зміни локомоторної активності та емоційних реакцій не супроводжувалися порушенням дослідницької активності, що віддзеркалює певну селективність седації. У дозі 100 мг/кг вплив на поведінкові реакції був аналогічним, але менш виразним. На тлі сполуки 2g у дозі 10 мг/кг збільшувалась локомоторна активність до 50 % ($p<0,05$) без будь-якого

впливу на інші поведінкові показники. За десятикратного збільшення дози, окрім підвищення локомоторної активності (до 43 %, $p<0,05$), спостерігалось збільшення кількості вертикальних стійок (до 89 %, $p<0,05$), що вказує на посилення психостимувальної дії за відсутності впливу на емоційні реакції.

У тесті ІТП серед досліджуваних сполук не було виявлено речовин, які мають виразні антидепресивні властивості. Похідні 2a та 2b, структурно найбільш подібні до 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-ону 1a, виявили антидепресивну активність на рівні тенденції в одній або обох дозах.

N-Бензоїльовані похідні 2i та 2j виявились найцікавішими сполуками за впливом на основний маркер тривожної поведінки тварин у тесті ПХЛ (загальний час, проведений у відкритих рукавах). Тварини, які отримували сполуку 2i в дозі 100 мг/кг, перебували у відкритих частинах лабіринту майже в 2,5 разу довше ($p<0,05$), аніж тварини відповідної групи ІК. Відповідний показник мишей, яким уводили 100 мг/кг 2j, порівняно з групою ІК був у 2,1 разу більшим ($p<0,05$). Оскільки анксіолітичні властивості доведено для хімічно споріднених N-бензоїльованих похідних 2i та 2j, до того ж у різних експериментах, це віддзеркалює певний зв’язок «хімічна структура – протитривожна активність».

Більшість досліджуваних речовин не підвищувала стійкість тварин до гіпоксії. Однак у тварин, які отримували 2a в дозі 10 мг/кг, тривалість життя за умов гострої гіпоксії з гіперкапнією достовірно подовжилась на 19,4 % ($p<0,05$), а сполука 2i виявила виразну антигіпоксичну дію (+27,3 %, $p<0,001$) у дозі 100 мг/кг, що співвідноситься з її анксіолітичною активністю у тій самій дозі в тесті ПХЛ.

За результатами ротарод-тесту не було виявлено жодних достовірних відмінностей у показниках тварин усіх експериментальних груп, що свідчить на користь відсутності у похідних як хінолін-4-ону 2a-j, так і 4-гідрокси-2-оксохіноліну 2k-n негативного впливу на координацію рухів та м’язових тонус.

На основі систематизації результатів скринінгу та попередніх досліджень (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010) шістнадцяти 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-онів та чотирьох похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів виявлено зв’язки між хімічною будовою досліджених сполук і спектром їх психофармакологічних ефектів. На основі узагальнення даних попереднього (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010) та репрезентованого скринінгів за сукупністю ефектів для поглибленого вивчення обрано 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-он (АТР), який у дозі 100 мг/кг виявляє виразні антидепресивні, стимулювальні та ноотропні властивості за відсутності впливу на тривожність та координацію рухів. За результатами проведеного скринінгу, окрім сполуки-лідера, виявлено речовини, які також можна розглядати як перспективні об’єкти для поглиблених досліджень: 3-[[(4-метоксифеніл)аміно]метил]-2-метил-1H-хінолін-4-он (2d), що виявляє специфічну седативну дію та значну антиамнестичну активність, та N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-фенілбензамід (2i), який поєднує протитривожну дію, антиамнестичну активність та антигіпоксичний ефект.

Поглиблене дослідження антидепресивної дії сполуки-лідера – 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-ону (атристаміну). Антидепресивну активність АТР доведено на моделі резерпінової депресії у щурів. Через 4 год після введення

резерпіну АТР достовірно зменшував ступінь гіпотермії з 1,31±0,08 °С у контролі до 0,55±0,17 °С (10 мг/кг) і 0,44±0,16 °С (100 мг/кг), перевершуючи референс-препарат ІМІ у дозі 25 мг/кг, і зменшував блефароптоз на рівні ІМІ (рис. 4).

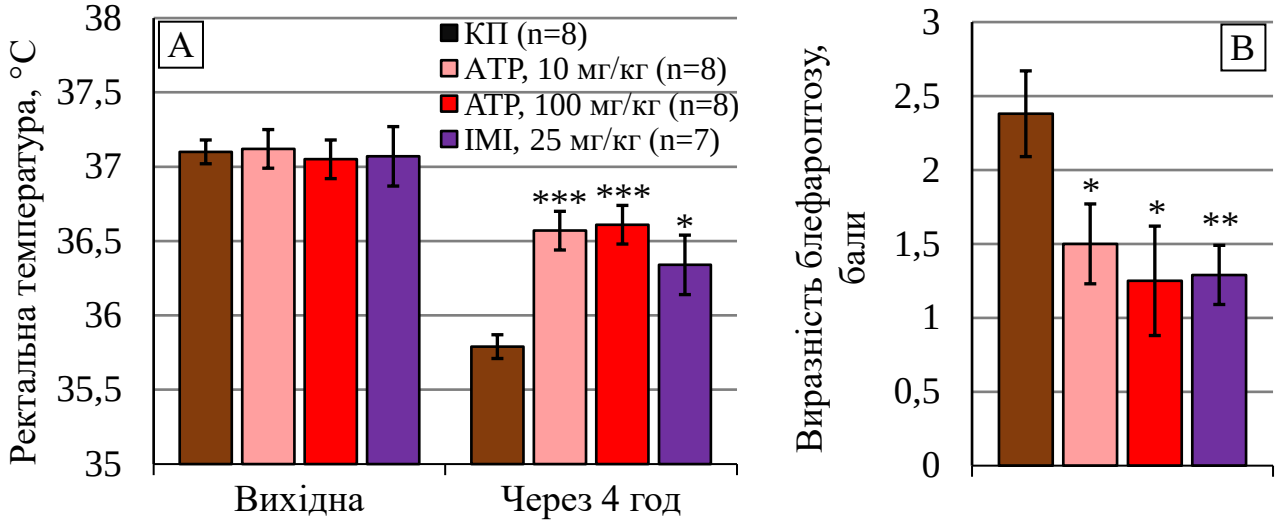

Рис. 4 Вплив атристаміну та іміпраміну на ректальну температуру (А) та блефароптоз (В) на моделі резерпін-індукованої депресії у щурів (через 4 год) (M±m)

Примітки:

1. *, ** та *** – достовірні відмінності з p<0,05, p<0,01 та p<0,001 відповідно з показником групи КП;

2. n – кількість тварин у групі.

У тесті ВП резерпін достовірно знижував показники локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності щурів. Сума всіх активностей на тлі резерпінової депресії знизилась у 4 рази (p<0,05). За профілактичного введення АТР у дозі 100 мг/кг при повторному тестуванні у ВП депримувальний вплив резерпіну значно слабшав. Кількість перетнутих квадратів та вертикальних стійок достовірно в 1,9 разу перевищували такі у групі КП (p<0,05), а сума показників орієнтовно-дослідницької активності – у 2 рази (p<0,01). Зниження суми всіх активностей проти вихідного показника було достовірним, але менш виразним – у 2,7 разу (p<0,05). Порівняно із зазначеним синхронним показником групи КП загальна сума була в 1,75 разу (p<0,05) більшою. Загалом, характер впливу АТР у дозі 100 мг/кг на показники щурів у тесті ВП на тлі резерпін-індукованої депресії збігається з таким ІМІ. Слід зауважити, що кількість перетнутих квадратів та сума всіх активностей щурів на тлі АТР у дозі 100 мг/кг достовірно відрізнялись від таких у тварин, що одержували дозу 10 мг/кг. Це вказує на дозозалежність антидепресивного ефекту АТР, навіть з урахуванням його доведеного впливу в дозі 10 мг/кг на зниження ректальної температури та блефароптоз у щурів. Таким чином, антагонізм з резерпіном свідчить на користь припущення про вплив АТР на моноамінергічні процеси головного мозку, що є основою механізму дії більшості антидепресантів.

Оскільки пошук ефективної дози є важливим етапом доклінічного вивчення перспективних лікарських засобів (О.В. Стефанов, 2001), наступним етапом дослідження було вивчення дозозалежності антидепресивного та антиамнестичного ефектів АТР у дозах 5; 50; 100 та 150 мг/кг при зіставленні з результатами первинного

скринінгу у дозах 10 та 100 мг/кг (С.Ю. Штриголь та ін., 2010). Доведено, що ефективною дозою для поглибленого доклінічного дослідження АТР є 100 мг/кг, у якій обидві активності (антидепресивна та антиамнестична) виявляються максимально.

Враховуючи особливості клінічного застосування антидепресантів, а саме поступовість розвитку терапевтично значущого ефекту (J. M. Witkin et al., 2018) та значну тривалість курсів призначення (J. Read et al., 2019), важливим аспектом експериментального вивчення перспективних антидепресантів є дослідження динаміки розвитку їх специфічної дії. Антидепресивний ефект АТР за багаторазового введення в умовно ефективній дозі (100 мг/кг) сягнув достовірного рівня на 4 добу (рис. 5А), на 7 добу вийшов на максимальний рівень за всіма показниками тесту ІТП і залишався таким надалі.

На 4 день дослідження загальний час іммобільності мишей групи АТР був достовірно меншим (–26,9 %, $p<0,05$) за показник тварин групи ІК, а латентний період першого зависання порівняно з таким у групі ІК був у середньому на 77 % ($p<0,01$) довшим. На 7 день експерименту в групі АТР порівняно з тваринами ІК спостерігали подальше посилення антидепресивної дії. Так, загальний час іммобільності був меншим на 30,2 % ($p<0,05$), латентний період першого зависання подовжився на 88,2 % ($p<0,01$), а середня тривалість одного епізоду іммобільності скоротилась на 43,5 % ($p<0,01$). Отже, на 7 добу експерименту всі маркери антидепресивної дії в групі АТР достовірно відрізнялись від таких у групі ІК. При порівнянні результатів дослідів на 10 та 14 день негативної динаміки показників тварин у групі АТР в тесті ІТП не було. Таким чином, доведено швидкий розвиток антидепресивної дії АТР, що є суттєвою перевагою перед більшістю відомих антидепресантів, клінічно значущий ефект яких розвивається повільно.

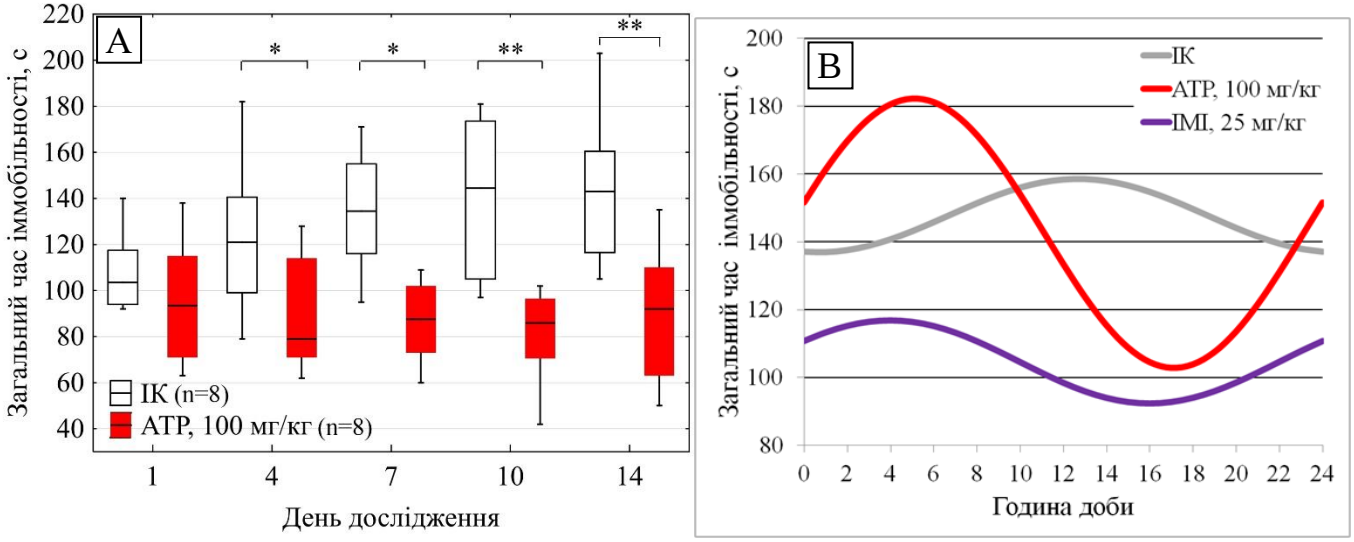

Рис. 5 Динаміка розвитку антидепресивного ефекту атристаміну за повторних досліджень у тесті ІТП (А) та хронограми показників загального часу іммобільності тварин на тлі атристаміну та іміпраміну в тесті ІТП (В)

Примітки:

1. *, ** – достовірні відмінності ($p<0,05$ та $p<0,01$) з синхронними показниками групи ІК;

2. n – кількість тварин у групі.

До основних ендогенних факторів впливу на депресивність відносять хронофізіологічні особливості секреції деяких нейромедіаторів та гормонів, у першу чергу мелатоніну (Z. M. Weil et al., 2006), а також кортизолу у людини (D. D. Qin et al., 2016) та кортикостерону в щурів та мишей (Y. Zhao et al., 2008; Iijima M. et al., 2010), які мають виразні циркадіанні та сезонні ритми. Це пояснює доведений факт, що антидепресанти мають різну ефективність залежно від фази циркадіанного циклу, в яку вони вводились (H. Kawai et al., 2019; E. M. McGlashan et al., 2018). Вищевикладене обґрунтувало необхідність дослідження варіативності впливу АТР (100 мг/кг в/ш) у порівнянні з трициклічним антидепресантом ІМІ (25 мг/кг в/о) на депресивність мишей з урахуванням хронофізіологічних (циркадіанних) чинників.

Тварини, яким вводили АТР (100 мг/кг в/ш), мали значну варіативність показників у тесті ІТП протягом доби. Загальний час іммобільності мишей вранці не відрізнявся від показника групи ІК, вдень АТР достовірно зменшував цей показник (–26,5 %, $p<0,05$) відносно ІК, увечері вплив досліджуваної сполуки на рівень депресивності мишей послаблювався, а вночі тварини цієї групи у середньому на 30 % довше перебували у стані «поведінкового відчаю» порівняно з синхронним контролем. Слід відмітити, що вдень та ввечері тварини групи АТР мали на 60,3 % ($p<0,05$) та 77,0 % ($p<0,05$) відповідно довший латентний час першого зависання, що добре корелює з показниками загального часу іммобільності як індикатора рівня депресивності тварин. У нічний період доби, навпаки, тварини зазначеної групи мали у 2,1 разу ($p<0,05$) більший показник середнього часу одного зависання порівняно з таким у групі ІК. У групі АТР усі чотири показники тесту ІТП вдень достовірно відрізнялись від нічних показників, що підкреслює значну добову варіативність впливу досліджуваної сполуки на рівень депресивності мишей.

Аналіз хронограм (рис. 5В) дозволив встановити, що, по-перше, тварини усіх груп мали 24-годинний синусоїдний хроноритм показників депресивності у тесті ІТП. По-друге, на тлі АТР та ІМІ відбувається однотипне зміщення акрофаз і, відповідно, батіфаз показників депресивності мишей відносно ІК. При цьому акрофази антидепресивної активності обох речовин припадають на денні та вечірні години. По-третє, на відміну від трициклічного антидепресанта ІМІ, АТР викликає виразні добові осциляції показників рівня депресивності мишей. Таким чином, антидепресивний ефект АТР має значні добові коливання, що підтверджує його моноамінергічну природу та демонструє можливість його прямого або опосередкованого механізму за участі мелатонінергічного компонента.

Дослідження впливу атристаміну на серотонін-, дофамін- та адренергічну системи головного мозку. Визначення впливу АТР на серотонін-, дофамін- та адренергічну системи *in vivo* із використанням відповідних фармакологічних аналізаторів є важливим етапом у розумінні механізмів психофармакологічних ефектів досліджуваної молекули, насамперед антидепресивної активності. Окрім цього, зіставлення результатів феноменологічних методик, що верифікують участь певної нейромедіаторної системи, та даних щодо вмісту відповідного церебрального моноаміну дозволяє виявити внесок у механізм АТР безпосередньої рецепторної дії та впливу на концентрацію ендогенних лігандів.

Методом імуноферментного аналізу доведено, що під впливом АТР (100 мг/кг в/ш) у головному мозку мишей достовірно на 16,8 % ($p<0,05$) знижується

концентрація серотоніну (рис. 6А), що свідчить на користь інгібування зворотного захоплення серотоніну, а також підвищується вміст дофаміну (на 22,0 %) та адреналіну (на 13,0 %). Це віддзеркалює значний вплив досліджуваної речовини на вміст церебральних моноамінів. Кореляційний аналіз показав, що АТР (100 мг/кг в/ш) суттєво послаблює зв'язок між вмістом серотоніну та дофаміну (r = –0,287), що наближається до ефектів референс-препаратів ПІР (200 мг/кг в/о) та IMI (25 мг/кг в/о), але посилює спряженість у парах серотонін-норадреналін (r = 0,483) та серотонін-адреналін (r = 0,464) (рис. 6В). На кореляційні зв'язки між вмістом дофаміну, норадреналіну та адреналіну АТР майже не впливає. Отже, результати (рис. 6А, 6В) підкреслюють як переважний вплив АТР на серотонінергічну систему, так і суттєві відмінності характеру його впливу на нейромедіаторні системи від ПІР та IMI.

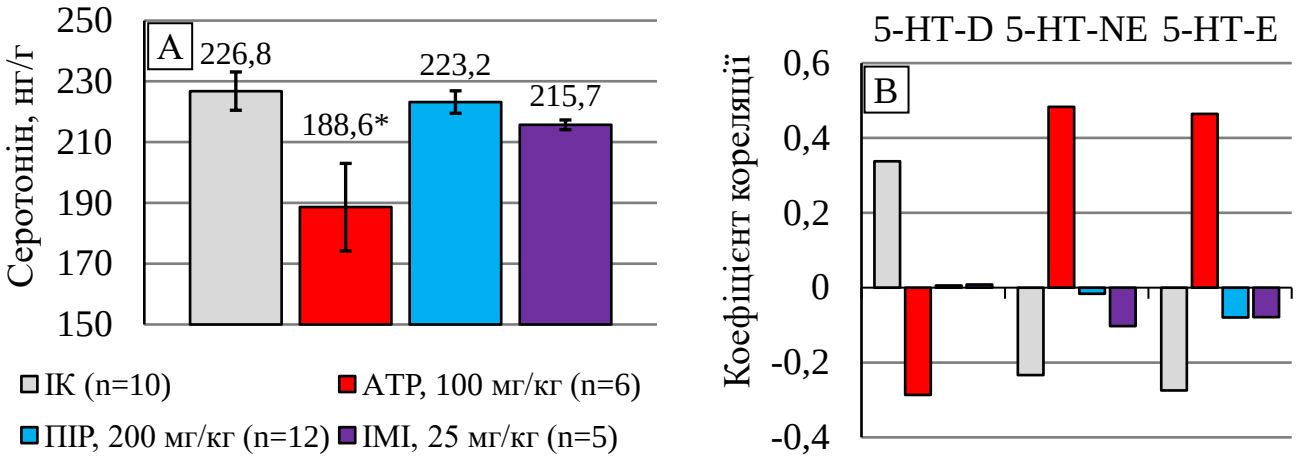

Рис. 6 Вплив атристаміну, пірацетаму та іміпраміну на вміст серотоніну в головному мозку мишей (А) та кореляційний аналіз (В) зв'язків між вмістом серотоніну (5-HT) та дофаміном (D), норадреналіном (NE), адреналіном (E) на тлі атристаміну

Примітки:

1. * – достовірні відмінності (p<0,05) з групою ІК;
2. n – кількість тварин у групі.

При дослідженні впливу на серотонінергічну систему АТР (100 мг/кг в/ш) не посилював та не подовжував індуковане 5-гідрокситриптофаном «струшування голови», що свідчить про відсутність впливу на активність моноаміноксидаз.

Вплив досліджуваної сполуки на дофамінергічну систему вивчено на моделях галоперидолової каталепсії та гіперактивності, викликаної L-ДОФА. АТР у дозі 100 мг/кг в/ш послаблював у мишей галоперидолову каталепсію, особливо в першій (30 хв) та кінцевій (180 хв) часових точках дослідження за скороченням тривалості стану каталептичної нерухомості на 54,0 % (p<0,05) та 64,7 % (p<0,05) відповідно. Тварини, що одержували комбінацію АТР та L-ДОФА в дозі 100 мг/кг, на ранніх стадіях розвитку гіперактивності мали результати, подібні до ефектів великої дози (500 мг/кг) аналізатора *per se*. Це вказує на дофамінергічний механізм і відповідає збільшенню церебрального вмісту дофаміну, але через 30 хв ознаки зменшувались, наближаючись до ефектів дози L-ДОФА 100 мг/кг *per se* (рис. 7А). Ці результати добре корелюють з тенденційним підвищенням вмісту дофаміну у головному мозку мишей на тлі АТР та свідчать на користь активації дофамінергічних процесів.

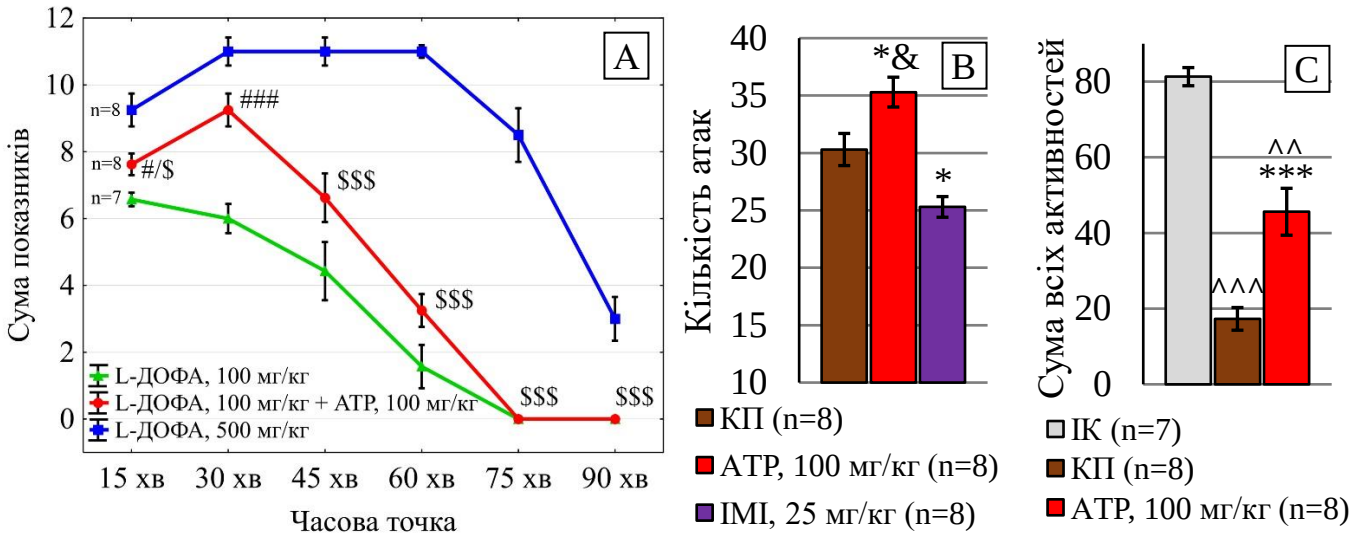

Рис. 7 Вплив атристаміну на розвиток у мишей L-ДОФА-індукованої гіперактивності (А), клонідин-індукованої агресії (В) та депресивної поведінки, викликаної клонідином, у тесті ВП (С) (M±m)

Примітки:

1. #, ### – достовірні відмінності (p<0,05 та p<0,001) з групою L-ДОФА (100 мг/кг);
2. $, $$$ – достовірні відмінності (p<0,05 та p<0,001) з групою L-ДОФА (500 мг/кг);
3. *, *** – достовірні відмінності (p<0,05 та p<0,001) з групою КП;
4. ^^, ^^^ – достовірні відмінності (p<0,01 та p<0,001) з групою ІК;
5. & – достовірні відмінності (p<0,05) з групою IMI (25 мг/кг);
6. n – кількість тварин у групі.

АТР (100 мг/кг в/ш) підвищує чутливість адренергічної системи. Це доведено посиленням викликаної клонідином агресивної поведінки (збільшення на 16,5 % кількості атак (рис. 7В) і скорочення на 22,6 % їх латентного часу проти КП, p<0,05) та послабленням клонідин-індукованої депресії, яке віддзеркалюється в тесті ВП нормалізацією показників локомоторної та вертикальної дослідницької активності до рівня ІК та достовірно меншим зниженням суми всіх активностей (–43,9 % проти –78,7 % у групі КП, p<0,05) (рис. 7С). У тесті клонідин-індукованої агресії трициклічний антидепресант IMI (25 мг/кг в/о) після одноразового введення, навпаки, достовірно послаблював агресивну поведінку тварин не тільки порівняно з показниками КП (–16,5 % до кількості атак, p<0,05), а особливо – АТР (в 1,4 разу за кількістю атак, p<0,05), що віддзеркалює відмінності в механізмах дії АТР і трициклічних антидепресантів. Таким чином, механізм антидепресивної дії АТР може включати інгібування зворотного захоплення серотоніну, а також посилення адрен- та дофамінергічних процесів.

Поглиблене дослідження ноотропних, антигіпоксичних, актопротекторних, церебропротекторних та аналгетичних властивостей атристаміну. Доведені у скринінговому дослідженні антиамнестичні властивості АТР (І. М. Подольський, 2009; С. Ю. Штриголь та ін., 2010) обґрунтували поглиблене вивчення його впливу на пам’ять та здатність до навчання. При дослідженні впливу на фази пам’яті в тесті УРПУ на моделі скополамін-індукованої амнезії у мишей АТР (100 мг/кг в/ш) підтвердив високу антиамнестичну активність, особливо у фазах консолідації

пам’ятного відбитку (49,7 %) та його репродукції (65,1 %), значно перевершуючи референс-препарат ПІР у дозі 200 мг/кг (відповідно 27,5 % та 12,4 %).

У тесті ВЛМ АТР (100 мг/кг в/ш) значно покращував здатність щурів до навчання та зберігання енграм просторової пам’яті за скороченням траєкторії руху в 5,1 разу (p<0,01) та часу досягнення платформи в 3,2 разу (p<0,05) проти таких у групі ІК (рис. 8). Його ефективність була на рівні референс-препаратів ПІР (300 мг/кг в/о) та ФЕН (20 мг/кг в/о). При цьому в щурів групи ПІР лінійна швидкість була на рівні такої у групі ІК, у той час як у тварин груп АТР та ФЕН вона була нижчою (рис. 8). Виявлений феномен можна трактувати як маркер більш впевненої та енергозберігаючої стратегії пошуку платформи, що свідчить про покращання просторової пам’яті, яке забезпечує більш ефективні енерговитрати та цілеспрямовану поведінку.

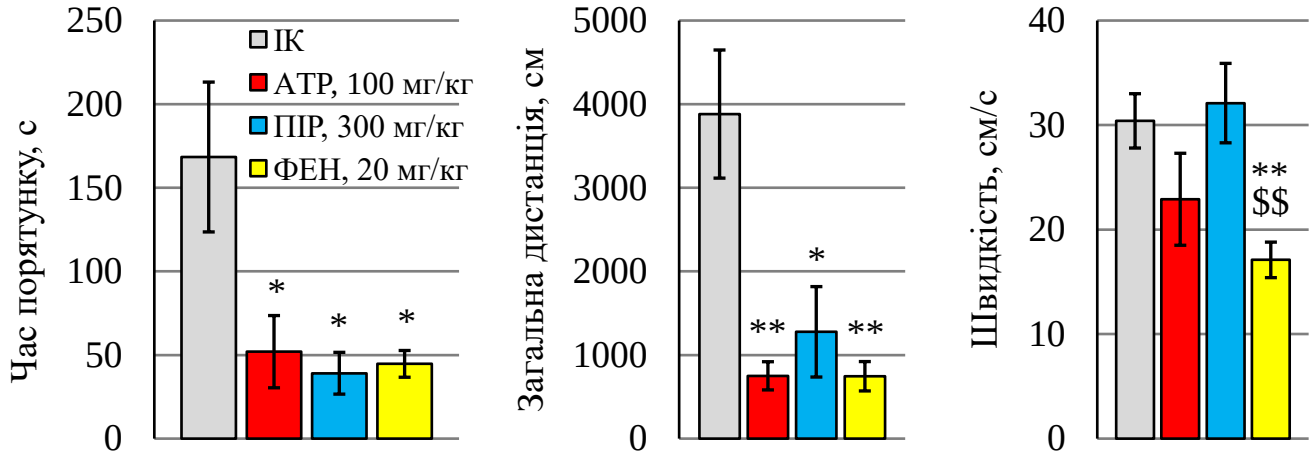

Рис. 8 Вплив атристаміну, пірацетаму та фенібуту на пам’ять та ефективність навчання щурів у тесті ВЛМ (M±m, n=7)

Примітки:

1. * та ** – достовірні відмінності з p<0,05 та p<0,01 порівняно з групою ІК;
2. $$ – достовірні відмінності з p<0,01 порівняно з групою ПІР;
3. n – кількість тварин у кожній групі.

Наступним кроком вивчення вторинної фармакодинаміки АТР була оцінка антигіпоксичних та актопротекторних властивостей. На моделі НГГГ сполука (100 мг/кг в/ш) достовірно подовжувала тривалість життя мишей на 13,6 % (p<0,01) (рис. 9А), але була неефективною на моделях гострих гіпобаричної та гострої гемічної гіпоксій. У тесті ПЗН для АТР (100 мг/кг в/ш) доведено актопротекторні властивості за подовженням часу повного виснаження майже у 3 рази (p<0,05) проти ІК (рис. 9В).

Виявлені ноотропні, антигіпоксичні та актопротекторні властивості підтвердили перспективність вивчення церебропротекторної активності АТР (100 мг/кг в/ш). Її доведено на моделі ЧМТ легкого ступеня у щурів за зменшенням неврологічного дефіциту на 85,7 % (p<0,001) щодо КП вже на наступну добу після травми (рис. 10А), збільшенням орієнтовно-дослідницької активності та емоційних реакцій (тест ВП), покращанням м’язового тонусу та координації рухів (тест ВСЕ), зниженням тривожності (тест ПХЛ), позитивним впливом на когнітивні функції (тест ЕВ) без погіршення фізичної витривалості (тест ПЗН).

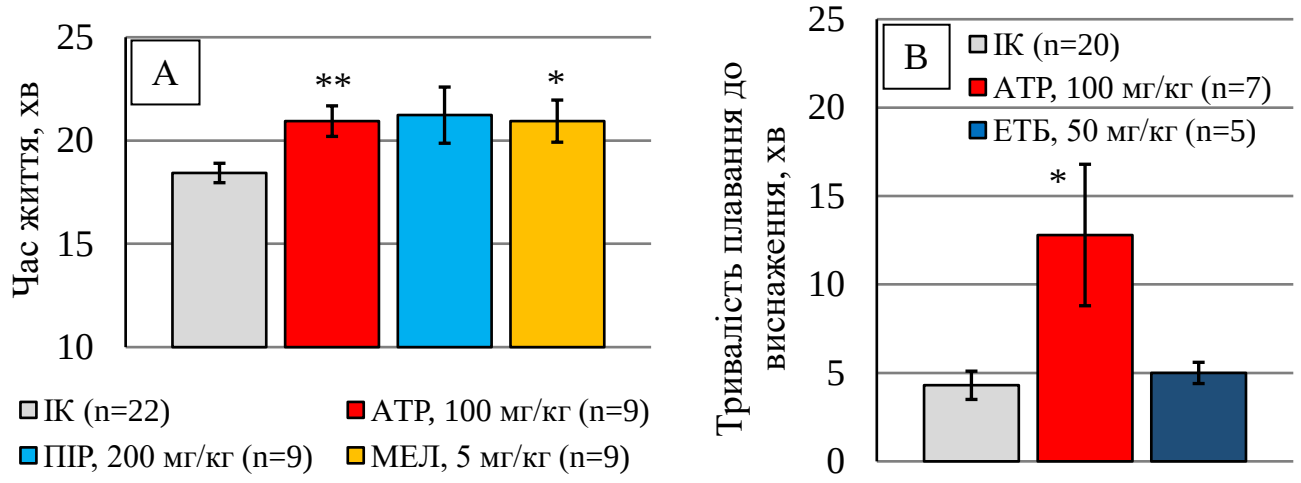

Рис. 9 Антигіпоксичні (А) та актопротекторні (В) властивості атристаміну

Примітки:

1. А – модель гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією у мишей; В – тест плавання з навантаженням у мишей;
2. * та ** – достовірні відмінності з $p<0,05$ та $p<0,01$ порівняно з групою ІК;
3. n – кількість тварин у групі.

На моделі ЧМТ АТР найвиразніше виявляє антидепресивну активність у тесті ПТП, підтверджуючи властивості антидепресанта за нейротравми (рис. 10В).

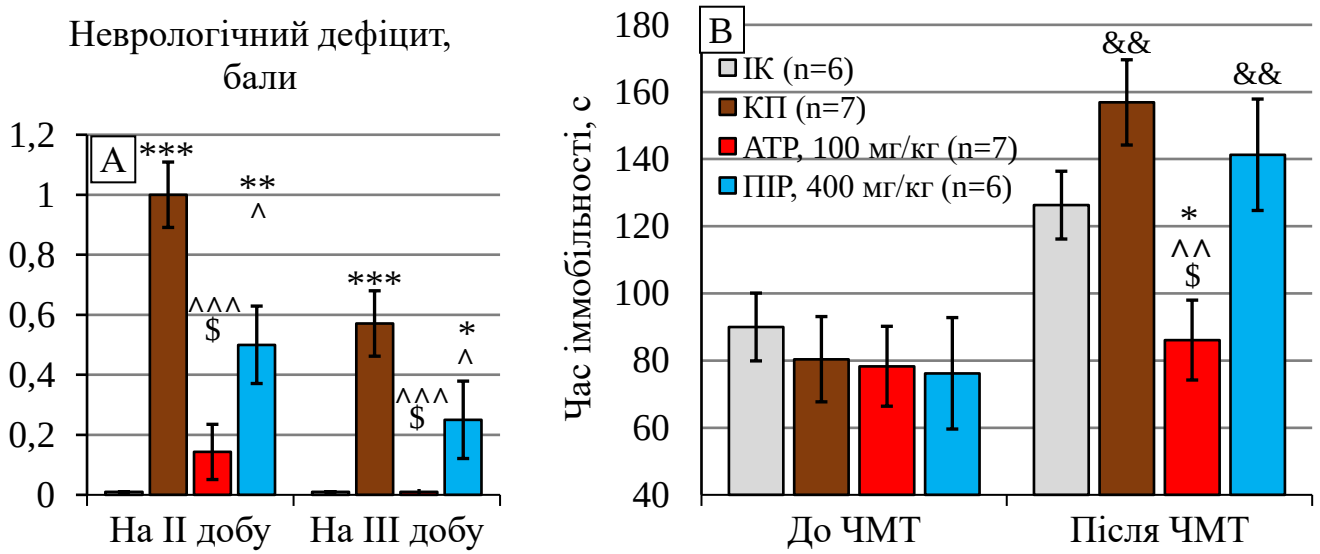

Рис. 10 Вплив лікування атристаміном та пірацетамом на неврологічний дефіцит за шкалою McGraw (А) та депресивність щурів у тесті ПТП (В) після ЧМТ (M±m)

Примітки:

1. *, ** та *** – $p<0,05$; $p<0,01$ та $p<0,001$ порівняно з групою ІК;
2. ^, ^^ та ^^^ – $p<0,05$, $p<0,01$ та $p<0,001$ порівняно з групою КП;
3. $ – $p<0,05$ порівняно з групою ПІР;
4. && – $p<0,01$ порівняно з показниками групи до ЧМТ;
5. n – кількість тварин у групі.

Церебропротекторний вплив АТР (100 мг/кг в/ш) у щурів після ЧМТ підтверджено гістологічно (рис. 11) та морфометрично за зменшенням ознак розладу мікроциркуляції та набряку в усіх досліджених структурах головного мозку, чисельності нейронів із метаболічними розладами, що забезпечило зниження гліо-нейронального (–7,3 %, $p<0,05$) та перинейронального сателітного (–31,5 %, $p<0,05$) індексів проти показників КП, збільшенням кількості життєздатних нейронів, нормалізацією співвідношення структурно-функціональних типів нейронів СМК практично до рівня ІК. За покращанням стану СМК (рис. 10) та кори мозочка щурів АТР (100 мг/кг в/ш) перевершує референс-препарат ПІР (400 мг/кг в/ш).

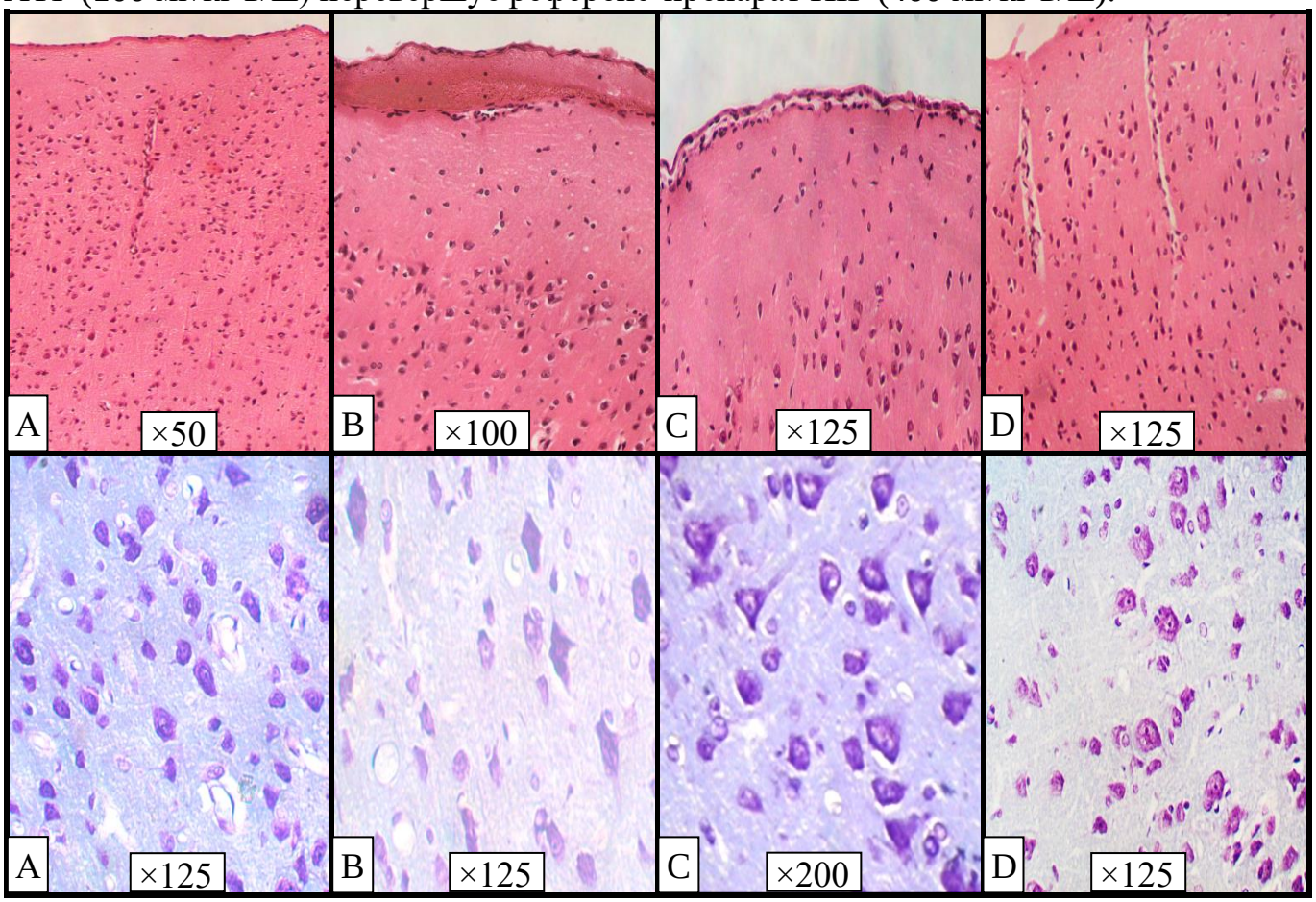

Рис. 11 Гістоструктура СМК щурів груп ІК (А), КП (В), атристаміну (С) та пірацетаму (D) на ІІІ добу після ЧМТ. Забарвлення: верхній ряд – гематоксилін-еозин, нижній ряд – тіонін за методом Ніссля

Дослідження впливу АТР (100 мг/кг в/ш) на прооксидантно-антиоксидантний баланс та показники енергетичного обміну в головному мозку щурів на ІІІ добу після ЧМТ показало, що ця сполука не виявляє прямої антиоксидантної дії, проте залучає глутатіонову систему до АОЗ мозку та переключає антиоксидантні механізми на утилізацію відновленого глутатіону з домінуючим впливом на запобігання утворенню вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (вміст ТБК-реактантів зменшується у 3,1 разу проти КП, $p<0,05$).

Узагальнення результатів дослідження церебропротекторних властивостей АТР на моделі ЧМТ легкого ступеня дало підстави для продовження досліджень на більш тяжких моделях ураження мозку. Для цього обрано модель церебральної ішемії

мозку – білатеральну каротидну оклюзію в щурів. Результати показали, що АТР (100 мг/кг в/ш) за профілактичного введення не впливає на летальність та виразність неврологічних симптомів тварин із загальним ішемічним ураженням мозку.

Більшості антидепресантів притаманні аналгетичні властивості (J. A. Micó et al., 2006; H. Obata, 2017), тому наступним логічним кроком було дослідження антиноцицептивного ефекту АТР. На моделі вісцерального болю (ОК) АТР (100 мг/кг в/ш) за одноразового введення не виявив аналгетичного ефекту. При цьому референс-препарати МЕТ (500 мг/кг в/о) та IMI (25 мг/кг в/о) достовірно зменшували кількість корчів на 81,9 % ($p<0,05$) та 80,4 % ($p<0,05$) відповідно. На моделі соматичного болю (ТІХ) АТР (100 мг/кг в/ш) за одноразового введення забезпечував знеболення починаючи з 90 хв (збільшення часу реакції на 68 % проти ІК, $p<0,05$) з максимальним ефектом через 120 хв (106 % проти ІК, $p<0,05$) (рис. 12). Виразний знеболювальний ефект референс-препарату МЕТ (500 мг/кг в/о) спостерігався в часових точках 60 хв та 90 хв і надалі не виявлявся, при цьому трициклічний антидепресант IMI (25 мг/кг в/о) за одноразового введення на зазначеній моделі не виявив антиноцицептивних властивостей. Отже, різниця знеболювальної дії АТР та IMI дозволяє припустити відмінності механізмів також основного (антидепресивного) ефекту АТР і трициклічних антидепресантів.

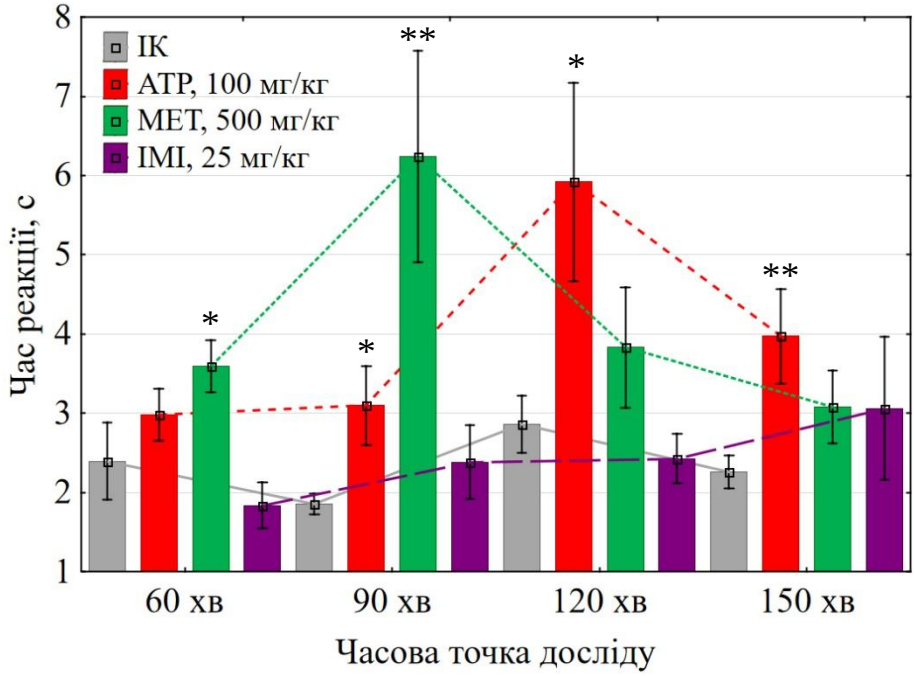

Рис. 12 Аналгетичні ефекти атристаміну, метамізолу натрію та іміпраміну на моделі ТІХ (M±m, n=8)
Примітки:
1. * та ** – достовірні відмінності ($p<0,05$ та $p\leq0,01$) порівняно з синхронним показником групи ІК;
2. n – кількість тварин у кожній групі.

На моделі соматичного болю (ТІХ) виявлено участь опіоїдергічної ланки в механізмі аналгетичного ефекту АТР, оскільки налоксон (5 мг/кг в/о) повністю усуває його. Для вдосконалення методичних підходів до експериментального вивчення здатності опіоїдергічних сполук викликати фізичну залежність досліджено власні поведінкові та нейротропні ефекти індуктора абстиненції налоксону. Встановлено, що налоксон (5-10 мг/кг) дозозалежно викликає симптоми, що можуть помилково трактуватись як опіоїдна абстиненція (блефароптоз, здригання голови). Для уникнення цих помилок пропонується формувати додаткову групу тварин з метою контролю власних ефектів налоксону. Цей фрагмент роботи покладено в основу створених за участі дисертанта методичних рекомендацій (С. Ю. Штриголь та ін.,

2019). З урахуванням зазначених вище удосконалень за оригінальним протоколом експерименту доведено, що АТР не має адиктивного потенціалу та не викликає фізичну залежність при курсовому введенні (14 днів) в умовно ефективній дозі 100 мг/кг як на моделі спонтанної абстиненції внаслідок неотримання чергової дози, так і за умов індукції абстинентного синдрому налоксоном.

За потенціюванням аналгетичної активності АТР (100 мг/кг в/ш) агоністом α_2-адренорецепторів клонідином у дозі 0,1 мг/кг (збільшення на 47-105 % через 60-150 хв, $p<0,05$ щодо групи АТР) та її зниженням на тлі $\beta_{1,2}$-адреноблокатора пропранололу на 54-70 % через 120-180 хв ($p<0,05$ щодо групи АТР) доведено значну роль адренергічного компоненту в механізмі знеболювальної дії досліджуваної речовини. Оскільки нейрональні системи, що контролюють больову чутливість та рівень депресивності, значною мірою перетинаються в ЦНС (J. A. Micó et al., 2006; H. Obata, 2017), одержані результати підсилюють гіпотезу щодо важливості впливу АТР на адренергічну систему також у механізмі його антидепресивної дії.

Взаємодія атристаміну з речовинами, що збуджують та пригнічують ЦНС. З метою доповнення відомостей про фармакодинаміку та безпечність АТР досліджено його взаємодію з речовинами, що пригнічують та збуджують ЦНС. Показники, отримані для АТР (100 мг/кг в/ш) на обох використаних судомних моделях (тіосемікарбазидній та стрихніновій), достовірно не відрізняються від даних груп КП. На тіосемікарбазидній моделі має місце тенденція до збільшення як латентного періоду судом (на 15,0 %), так і часу загибелі (на 11,6 %). Привертають увагу показники тяжкості пароксизмів при введенні стрихніну на тлі АТР, де тільки у 2 тварин із 8 (25 %) проти 3 із 5 у контрольній групі (60 %) на момент загибелі мали місце найбільш тяжкі судоми – тонічна екстензія, інші гинули за відсутності тонічного компоненту. Ці результати свідчать про тенденційне ослаблення конвульсійної дії як тіосемікарбазиду, так і стрихніну на тлі застосування АТР. Отже, виявлено суттєву позитивну властивість АТР – відсутність проконвульсивної дії, яка в клінічній практиці значно ускладнює застосування антидепресантів, особливо трициклічних (M. J. Jackson, D. Turkington, 2005).

У тесті ВП досліджено взаємодію АТР (100 мг/кг в/ш) з кофеїном у дозі 50 мг/кг. Кофеїн *per se* змешував кількість обстежених отворів на 55,9 % ($p<0,001$), що спричинило зниження суми показників орієнтовно-дослідницької активності на 50,2 % ($p<0,01$), а також суми всіх видів активності на 24,1 % ($p<0,05$). При цьому достовірно зростала сума показників емоційних реакцій та їх вегетативного супроводу (кількість актів грумінгу, фекальних болюсів та уринацій) на 127,3 % ($p<0,05$). АТР (100 мг/кг в/ш) усував анксіогенні ефекти кофеїну, що виражалося в достовірному збільшенні дослідницької активності (кількості обстежених отворів і стійок), а також тенденції до зниження емоційної активності тварин. Отже, встановлено відсутність негативних нейротоксичних наслідків при поєднаному застосуванні АТР з блокатором аденозинових рецепторів у високій дозі.

Виявлена на тлі АТР тенденція до збільшення часу входу в наркоз, викликаний тіопенталом натрію, на 18 % і зменшення його тривалості на 17 % розкриває ще одну позитивну властивість досліджуваної речовини, а саме відсутність притаманного багатьом антидепресантам потенціювання пригнічувальної дії (S. J. Liu et al., 1975). На моделі етанолового наркозу АТР (100 мг/кг в/ш) на 19,2 % ($p<0,05$) зменшував

тривалість сну тварин, у той час як ефект референс-препарату ЕТБ (50 мг/кг в/ш) не сягав статистично значущого рівня. Отримані результати свідчать на користь алкопротекторного впливу АТР при поєднанні з етанолом. Такий характер взаємодії можна вважати сприятливим, оскільки більшість антидепресантів знижує толерантність до етанолу, подовжуючи тривалість наркозу (J.M. Cott, S.O. Ögren, 1980; E. Czarnecka et al., 1989; E. Czarnecka, B. Pietrzak, 1991), та несумісна з алкоголем, у тому числі в складі лікарських форм. Таким чином, АТР не має проконвульсивних властивостей, сприятливо модулює фармакологічні ефекти кофеїну, не потенціює дію барбітуратів, а також виявляє алкопротекторний вплив.

In silico дослідження фармакодинамічних та фармакокінетичних властивостей атристаміну. З метою з'ясування окремих фармакодинамічних та фармакокінетичних властивостей атристаміну застосовано методи комп'ютерного прогнозування та моделювання. За наявності конкретних результатів фармакологічного скринінгу 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів як сполук з психо- та нейротропними властивостями вважали за доцільне провести ретроспективне комп'ютерне прогнозування спектру біологічної активності за допомогою програмного комплексу PASS Online з метою зіставлення. Аналіз отриманих результатів виявив, що серед найвищих показників досліджених сполук майже не зустрічаються ефекти, що можуть бути віднесені до психо- та нейротропного профілю біологічної активності. Цей факт підкреслює виправданість та обґрунтованість саме структурно-логічного підходу, покладеного в основу початкової гіпотези щодо хімічної подібності досліджуваного класу сполук з нейромедіатором серотоніном. У випадку прийняття за основу результатів комп'ютерного прогнозування для 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів отримані дані не дозволили б припустити у досліджених сполук психо- та нейротропні види активності та спрямувати пошук у зазначеному напрямку.

За допомогою онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі, проведено *in silico* дослідження можливих шляхів метаболізму АТР для обох можливих таутомерних форм зазначеної молекули. Результати свідчать на користь того, що досліджувана сполука з високою ймовірністю інтенсивно метаболізується за участі ферментних систем цитохрому Р450. Показано, що наявність вторинної аміногрупи у молекулі 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону та 4-гідроксигрупи у структурі іншого таутомера (4-гідрокси-2-метил-3-(феніламінометил)-хіноліну) обумовлює високу ймовірність глюкуронування з утворенням відповідно N- та O-глюкуронідів. Для 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону як більш стійкої форми показано, що основними шляхами метаболізму можуть виступати ароматичне та аліфатичне гідроксилювання, окиснювальне дезамінування, N-гідроксилювання та епоксидування (рис. 13). Найбільшої уваги заслуговує напрямок аліфатичного гідроксилювання, оскільки, на відміну від усіх інших шляхів, внаслідок цього прогнозується утворення метаболітів з новими фармакологічними властивостями – похідних кінуренової кислоти. Зважаючи на вірогідність біотрансформації АТР до похідного кінуренової кислоти з феніламінометильним замісником у положенні 3 гетероциклу, не можна виключити, що саме цей метаболіт частково забезпечує психо- та нейротропні властивості досліджуваної сполуки. Це підсилює гіпотезу, що АТР в аспекті реалізації деяких видів своєї активності може виступати як проліки (prodrug).

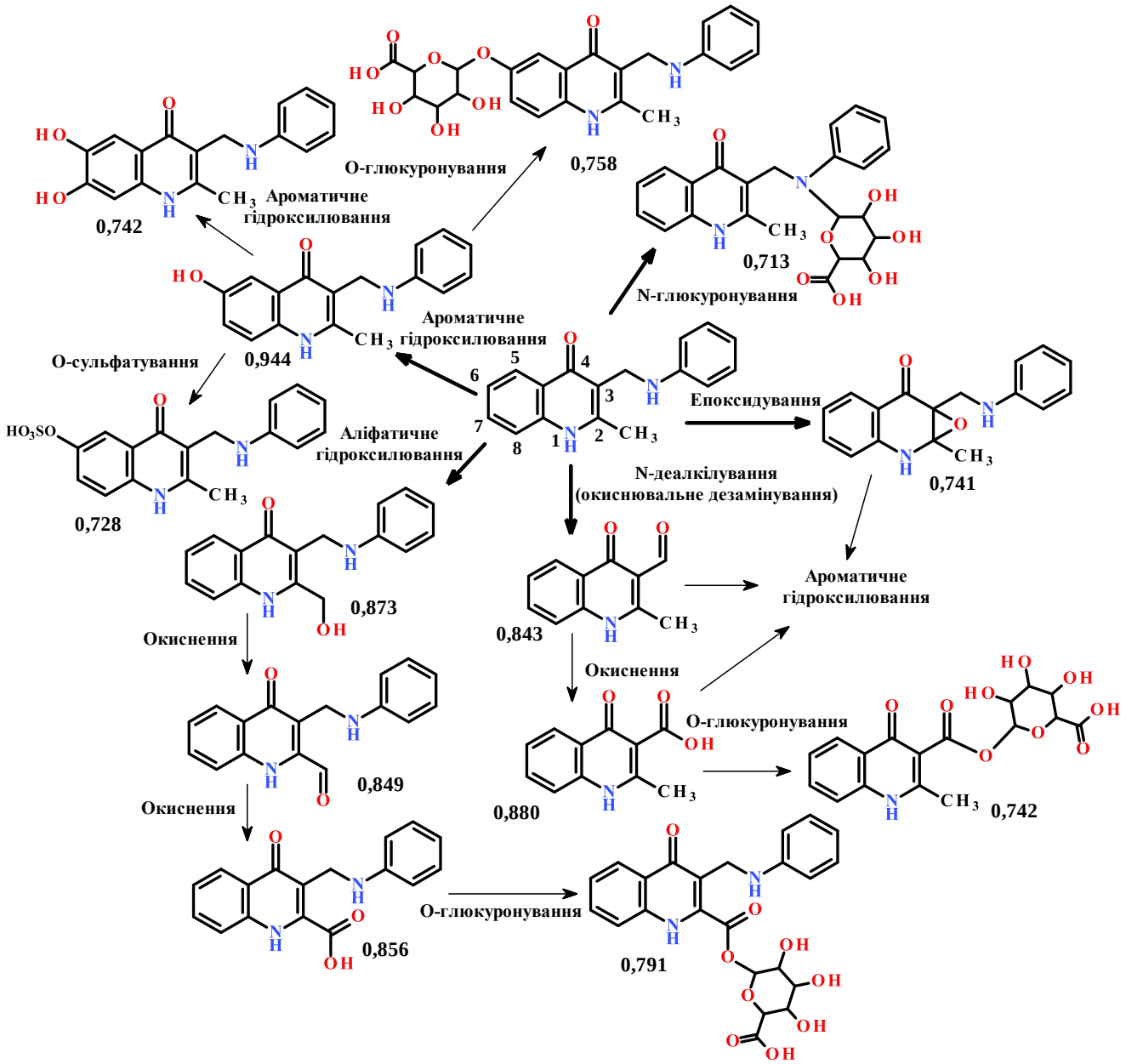

Рис. 13 Імовірні шляхи метаболізму атристаміну в організмі людини за результатами веб-сервісу «Way2Drug RA»

Примітки:

1. Наведено основні реакції метаболізму для 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-ону як більш стабільної таутомерної форми, значення DeltaP та хімічні структури відповідних метаболітів;

2. Наведено тільки процеси, для яких DeltaP > 0,7;

3. Нумерація атомів у гетероциклі наведена згідно з номенклатурою ІЮПАК.

Результати рецепторно-орієнтованого гнучкого докінгу свідчать, що найкращі показники взаємодії АТР має відносно транспортера серотоніну (SERT, PDB ID: 5I6X): в оксо-формі він має найнижчі показники вільної енергії зв’язування та константи інгібування (EDoc = –8,14 ккал/моль, Ki = 1,07 мкмоль), які перевершують показники циталопраму (EDoc = –6,63 ккал/моль, Ki = 13,83 мкмоль) та пароксетину (EDoc = –6,83 ккал/моль, Ki = 9,93 мкмоль). Більш того, візуальний аналіз комплексу

ліганд–мішень (рис. 14) показав утворення двох міцних водневих зв'язків між залишком фенілаланіну (335) і NH-групою хінолонового циклу (довжина – 2,23 Å), а також фрагментом треоніну (497) та кетогрупою гетероциклу (довжина – 2,50 Å). Саме можливість утворення міцних водневих зв'язків свідчить на користь енергетичної вигідності та стійкості утвореного комплексу.

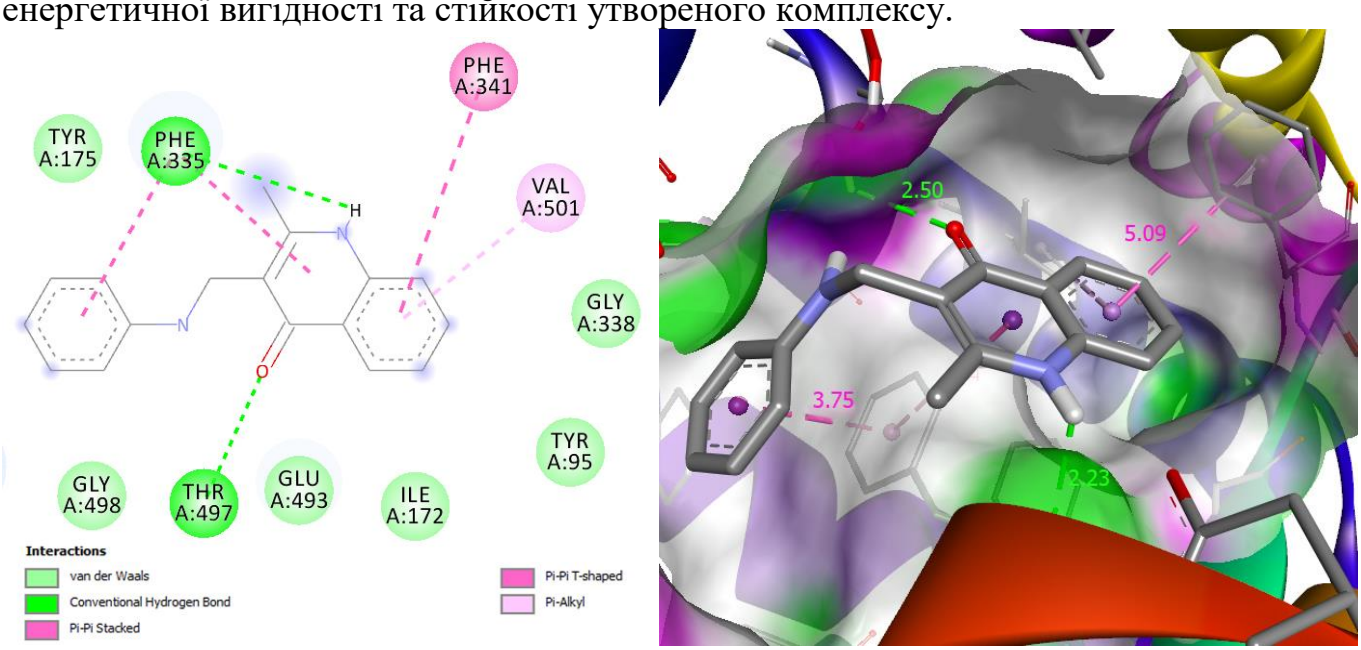

Рис. 14 2D-діаграма та 3D-модель зв'язування молекули атристаміну з сайтом транспортеру серотоніну (SERT)

Примітки:

1. Зеленим кольором позначені водневі зв'язки, малиновим – π-π взаємодії.
2. Довжина зв'язків наведена в ангстремах, Å.

На користь переважного впливу АТР саме на транспортери нейромедіаторів свідчать і результати докінгу до транспортера лейцину (LEUTAA, PDB ID: 2A65), який донедавна застосовувався як єдина модель для досліджень інгібіторів зворотного захоплення норадреналіну, серотоніну та дофаміну. Розраховані для АТР абсолютні показники скорингової функції, вільної енергії зв'язування та константи інгібування (Affinity dG = –8,0; EDoc = –5,69 ккал/моль, Ki = 67,41 мкмоль) мають кращі значення порівняно з селективним інгібітором атомоксетином (Affinity dG = –7,4; EDoc = –4,97 ккал/моль, Ki = 226,67 мкмоль). Отже, АТР може реалізовувати як основний антидепресивний ефект, так і додаткові види активності шляхом зв'язування з транспортерами нейромедіаторів (серотоніну, норадреналіну та дофаміну), яке призводить до інгібування їх зворотного захоплення. При порівнянні показників вільної енергії зв'язування АТР та відомих лігандів з відповідними мішенями не можна виключити й пряму його взаємодію з рецепторами.

Дослідження показників безпеки атристаміну. Дослідження гострої токсичності АТР проведено на двох видах тварин – мишах та щурах. Показники виживаності дозволили розрахувати LD_{50} за в/ш введення мишам та щурам, які при застосуванні методу Бліса-Прозоровського склали 6133±568 мг/кг та 4164±309 мг/кг відповідно. Отже, за величиною LD_{50} для щурів АТР може бути віднесений за класифікацією Hodge та Sterner до малотоксичних речовин (IV клас). Згідно з

отриманими даними динаміки виживаності як мишей, так і щурів протягом усього експерименту критичною в аспекті летальності є перша доба після введення речовини. Тварини, що вижили, при подальшому спостереженні повертались до нормального стану і вже на 4-5 добу не відрізнялись за загальним станом та поведінкою від щурів, що одержували нижчі дози. Очевидно, що АТР за показниками гострої токсичності вигідно відрізняється від усіх відомих лікарських речовин, що вже тривалий час використовуються для лікування депресивних розладів. Його LD_{50} на порядок вище ніж у більшості антидепресантів та в 4-5 разів вище ніж у найбільш безпечних сертраліну та агомелатину.

За сукупністю результатів вивчення підгострої токсичності АТР на щурах обох статей показано, що його щоденне в/ш уведення впродовж 28 діб у дозі 100 мг/кг не чинить токсичної дії незалежно від статі тварин за критеріями відсутності впливу на їх загальний стан, динаміку маси тіла, поведінку, показники функціонального стану ЦНС, серця, нирок, печінки, загальних аналізів крові та сечі, біохімічні маркери сироватки крові, коефіцієнти маси внутрішніх органів, їх макроскопічний стан. Доведено, що за повторних в/ш уведень упродовж 28 діб АТР не спричиняв будь-яких специфічних змін гістоструктури СМК головного мозку, серця, печінки, нирок, селезінки, наднирників, шлунка та гонад. Мікроскопічна будова органів цих тварин була подібна та не мала суттєвих відмінностей від такої у щурів груп ІК.

Таким чином, на підставі одержаних результатів АТР доцільно позиціонувати як антидепресант, який характеризується полімодальним впливом на ЦНС – додатково виявляє ноотропні, антигіпоксичні, алкопротекторні, актопротекторні, церебропротекторні та аналгетичні властивості (рис. 15). Окрім цього, доведений антагонізм АТР із резерпіном та галоперидолом, характер взаємодії з L-ДОФА та підвищення на його тлі вмісту дофаміну в головному мозку мишей обґрунтовують перспективність дослідження протипаркінсонічної активності, а низка ефектів вторинної фармакодинаміки є предикторами стреспротекторних властивостей.

Рис. 15 Узагальнення одержаних результатів та перспектива подальших досліджень атристаміну

Поряд із низкою додаткових фармакологічних ефектів серед позитивних рис АТР слід відзначити його низьку токсичність та безпечність за багаторазового введення, швидкий розвиток антидепресивного ефекту, відсутність адиктивного потенціалу та здатності викликати фізичну залежність за доведеної участі опіоїдергічної системи в механізмі знеболювальної дії, відсутність проконвульсивних властивостей та потенціювання ефектів барбітуратів, алкопротекторну дію та здатність впливати не тільки на поведінкові реакції тварин на тлі ЧМТ, а й покращувати гістоструктуру головного мозку і знижувати неврологічний дефіцит.

Таким чином, результати експериментально обґрунтовують доцільність подальшого доклінічного та клінічного дослідження АТР як перспективного антидепресанта з політропними психо- та нейротропними властивостями.

ВИСНОВКИ

З огляду на особливе місце депресивних та коморбідних розладів у структурі психічних захворювань, високу захворюваність на тяжкі депресивні розлади, не завжди достатню ефективність і безпеку їх фармакотерапії зберігає актуальність пошук нових БАР з антидепресивною активністю та сприятливою вторинною фармакодинамікою (ноотропні, церебропротекторні, аналгетичні властивості тощо), з’ясування механізмів їх дії та показників безпеки, розробка та впровадження у медичну практику лікарських препаратів на їх основі. У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової проблеми підвищення ефективності та безпеки лікування депресивних та коморбідних розладів шляхом дослідження інноваційного активного фармацевтичного інгредієнта 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону (атристаміну) з метою створення ефективного та безпечного антидепресанта з полімодальним впливом на ЦНС.

1. Систематизація результатів скринінгу та попередніх власних досліджень 16 похідних 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів і 4 похідних 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів демонструє зв’язки між хімічною будовою та спектром психофармакологічних ефектів сполук. 3-Ариламінометил-2-метил-1Н-хінолін-4-онам властива висока антиамнестична активність, яка може поєднуватись зі стимулювальними, седативними, антидепресивними, антигіпоксичними ефектами. Антиамнестична дія 3-диметиламінометильних похідних поєднується зі стимулювальною без антидепресивної. N-Бензоїльовані похідні 3-ариламінометил-2-метил-1Н-хінолін-4-онів мають виразні ноотропні та анксіолітичні властивості, що можуть поєднуватись з антигіпоксичною дією без впливу на депресивну поведінку. 3-Гетериламінометилзаміщені похідні хінолін-4-онів найменш перспективні для пошуку нових психотропних сполук. Похідні 4-гідрокси-2-оксохінолін-3-карбоксамідів, які досліджено для з’ясування ролі гетероциклічного фрагменту та аміногрупи в структурі 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів для психотропної дії, мають нижчу антиамнестичну активність і вузький психофармакологічний спектр, що підкреслює фармакофорну роль природи гетероциклу та замісника в положенні 3 молекули. За сукупністю ефектів для поглибленого вивчення обрано 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-он («Атристамін»), який у дозі 100 мг/кг виявляє виразні антидепресивні, стимулювальні та ноотропні властивості без впливу на тривожність та координацію рухів.

2. На моделі резерпінової депресії у щурів атристамін дозозалежно знижує ступінь гіпотермії з 1,31±0,08 °С у контролі до 0,55±0,17 °С (10 мг/кг, $p<0,01$) і 0,44±0,16 °С (100 мг/кг, $p<0,001$), перевершуючи іміпрамін (25 мг/кг). Атристамін (100 мг/кг) зменшує блефароптоз та послаблює депримувальний вплив резерпіну в тесті відкритого поля на рівні іміпраміну. При вивченні дозозалежності дії атристаміну в діапазоні доз 5-150 мг/кг визначено умовно ефективну дозу 100 мг/кг, яка забезпечує максимальну антидепресивну та антиамнестичну дію. За тривалого введення антидепресивний ефект атристаміну сягає достовірного рівня на 4 добу, на 7 добу виходить на максимум за всіма показниками іммобілізаційного тесту Порсолта та надалі залишається стабільним. У хронофармакологічному дослідженні варіативності впливу на депресивну поведінку мишей в іммобілізаційному тесті Порсолта атристамін викликає виразні добові коливання показників і лише вдень (14:00-16:00) достовірно зменшує загальний час іммобільності на 26,5 % ($p<0,05$).

3. Атристамін знижує концентрацію серотоніну в головному мозку інтактних мишей на 16,8 % ($p<0,05$), що свідчить на користь інгібування його зворотного захоплення, а також підвищує вміст дофаміну на 22,0 % та адреналіну на 13,0 %. Це віддзеркалює значний вплив атристаміну на вміст церебральних моноамінів, що підтверджено кореляційним аналізом. Атристамін не посилює та не подовжує індуковане 5-гідрокситриптофаном «струшування голови», що вказує на відсутність впливу на активність моноаміноксидаз. Атристамін послаблює галоперидолову каталепсію у мишей (особливо на 30 хв та 180 хв), скорочуючи тривалість нерухомого стану на 54,0 % ($p<0,05$) та 64,7 % ($p<0,05$) відповідно. На моделі індукованої L-діоксифенілаланіном гіперактивності атристамін на тлі дози аналізатора 100 мг/кг на початку досліду чинить ефекти, подібні до дії великої дози (500 мг/кг) L-діоксифенілаланіну *per se*, що вказує на дофамінергічний механізм і відповідає збільшенню церебрального вмісту дофаміну, але за 30 хв ця дія зменшується, наближаючись до ефектів аналізатора *per se* у дозі 100 мг/кг. Атристамін підвищує чутливість адренергічної системи: посилює викликану клонідином агресивну поведінку (збільшення на 16,5 % кількості атак і скорочення на 22,6 % їх латентного часу проти контролю, $p<0,05$) і послаблює клонідин-індуковану депресію, достовірно менше знижуючи суму всіх активностей у тесті відкритого поля (–43,9 % проти –78,7 % у контролі, $p<0,05$). Отже, механізм антидепресивної дії атристаміну може включати інгібування зворотного захоплення серотоніну та посилення адрен- та дофамінергічних процесів.

4. У тесті умовної реакції пасивного уникнення на моделі скополамінової амнезії у мишей атристамін (100 мг/кг) виявляє антиамнестичну активність, особливо у фазах консолідації (49,7 %) та репродукції (65,1 %), значно перевершуючи референс-препарат пірацетам у дозі 200 мг/кг. У водному лабіринті Морріса атристамін (100 мг/кг) значно покращує здатність щурів до навчання та зберігання енграм просторової пам’яті за скороченням траєкторії руху в 5,1 разу ($p<0,01$) та часу досягнення платформи в 3,2 разу ($p<0,05$) проти таких у контролі. На моделі гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією атристамін (100 мг/кг) подовжує тривалість життя тварин на 13,6 % ($p<0,01$), але неефективний на моделях гострої гіпобаричної та гострої гемічної гіпоксій. У тесті плавання з навантаженням атристамін (100 мг/кг) чинить актопротекторну дію, подовжуючи час повного

виснаження майже у 3 рази ($p<0,05$) проти контролю.

5. На моделі закритої черепно-мозкової травми у щурів атристамін (100 мг/кг) чинить церебропротекторний вплив: зменшує неврологічний дефіцит за шкалою McGraw на 85,7 % ($p<0,001$) щодо контрольної патології вже на наступну добу після травми, збільшує орієнтовно-дослідницьку активність та емоційні реакції (відкрите поле), поліпшує м'язовий тонус і координацію рухів (вертикальний сітчастий екран), знижує тривожність (піднесений хрестоподібний лабіринт), позитивно впливає на когнітивні функції (екстраполяційне вивільнення) без погіршення фізичної витривалості (плавання з навантаженням). За черепно-мозкової травми атристамін чинить виразну антидепресивну дію у плавальному тесті Порсолта, підтверджуючи властивості антидепресанта. Церебропротекторні властивості атристаміну верифіковано гістологічно та морфометрично. За покращанням морфологічного стану сенсомоторної кори та кори мозочка головного мозку щурів атристамін (100 мг/кг) перевершує пірацетам (400 мг/кг). На моделі черепно-мозкової травми атристамін не виявляє прямої антиоксидантної дії, проте залучає глутатіонову систему до антиоксидантного захисту мозку та переключає механізми на утилізацію відновленого глутатіону з домінуючим впливом на запобігання утворенню вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (вміст ТБК-реактантів зменшується у 3,1 разу проти контрольної патології, $p<0,05$). На моделі білатеральної каротидної оклюзії у щурів атристамін не виявляє церебропротекторної активності за впливом на летальність і неврологічний дефіцит.

6. На моделі вісцерального болю (оцтовокислі корчі) атристамін (100 мг/мг) не виявляє аналгетичного ефекту. На моделі соматичного болю (тест теплової імерсії хвоста мишей) атристамін забезпечує знеболення починаючи з 90 хв (збільшення часу реакції на 68 % проти контролю, $p<0,05$) з максимальним ефектом через 120 хв (106 %, $p<0,05$). За потенціюванням аналгетичної активності агоністом α_2-адренорецепторів клонідином (збільшення на 47-105 % через 60-150 хв, $p<0,05$) та її зниженням на тлі $\beta_{1,2}$-адреноблокатора пропранололу на 54-70 % через 120-180 хв ($p<0,05$) доведено значну роль адренергічного компоненту в механізмі знеболювального ефекту атристаміну. На моделі соматичного болю виявлено участь опіоїдергічної системи в механізмі аналгетичної дії атристаміну, яку усуває налоксон. Атристамін (100 мг/кг) не має адиктивного потенціалу та не викликає фізичну залежність при курсовому введенні (14 днів) як на моделі спонтанного абстинентного синдрому внаслідок неотримання чергової дози, так і за індукції налоксоном. Доведено, що налоксон (5-10 мг/кг) дозозалежно викликає блефароптоз і здригання голови, що можуть помилково трактуватись як опіоїдна абстиненція. Для вдосконалення методичних підходів до вивчення здатності хімічних речовин викликати фізичну залежність в експерименті пропонується формувати додаткову групу тварин з метою контролю власних ефектів індуктора абстиненції налоксону.

7. Атристамін не посилює ефекти низки речовин збуджувальної дії (тіосемікарбазид, стрихнін, кофеїн-бензоат натрію). На моделях індукованих тіосемікарбазидом або стрихніном судом атристамін не виявляє проконвульсивних властивостей. Анксіогенні ефекти кофеїну в тесті відкритого поля атристамін усуває, достовірно збільшуючи дослідницьку активність, тенденційно знижуючи емоційні реакції та відновлюючи суму всіх активностей до рівня інтактного контролю,

тимчасом як кофеїн *per se* знижує цей показник на 24,1 % ($p<0,05$). Атристамін виявляє помірний антагонізм із депримуючими речовинами: тенденційно (на 18 %) збільшує час настання тіопенталового наркозу і зменшує його тривалість на 17 %, виявляє алкопротекторну активність за скороченням тривалості етанолового наркозу на 19,2 % ($p<0,05$). Отже, небезпечних взаємодій атристаміну зі збуджувальними та пригнічувальними речовинами не виявлено.

8. Із застосуванням 4 алгоритмів комп'ютерного прогнозування встановлено, що молекула атристаміну з високою ймовірністю інтенсивно метаболізується за участі ферментних систем цитохрому P450, а основними шляхами біотрансформації можуть виступати ароматичне гідроксилювання, аліфатичне гідроксилювання, окиснювальне дезамінування, N-гідроксилювання та епоксидування. Найбільшої уваги заслуговує напрямок аліфатичного гідроксилювання, оскільки, на відміну від усіх інших шляхів, внаслідок цього прогнозується утворення метаболітів з новими фармакологічними властивостями (похідні кінуренової кислоти).

9. Методом рецепторно-орієнтованого гнучкого докінгу показано, що молекула атристаміну може реалізовувати і основний антидепресивний ефект, і супутні види активності шляхом зв'язування з транспортерами нейромедіаторів (серотоніну, норадреналіну та дофаміну), яке призводить до інгібування їх зворотного захоплення. Це підтверджує уявлення про механізм дії атристаміну, який обґрунтовано його взаємодією з речовинами-аналізаторами нейромедіаторних систем та впливом на вміст церебральних моноамінів (висновок 3). Найкращі показники взаємодії атристамін має щодо транспортера серотоніну (SERT, PDB ID: 5I6X): в оксо-формі він має найнижчу вільну енергію зв'язування (–8,14 ккал/моль), яка перевершує показники циталопраму та пароксетину, а візуальний аналіз комплексу ліганд–мішень показав утворення двох міцних водневих зв'язків між залишком фенілаланіну (335) і NH-групою хінолонового циклу (довжина 2,23 Å) та фрагментом треоніну (497) і кетогрупою гетероциклу (довжина 2,50 Å).

10. За внутрішньошлункового введення мишам LD_{50} атристаміну становить 6133±568 мг/кг (V клас токсичності), щурам – 4164±309 мг/кг (IV клас токсичності). Щоденне внутрішньошлункове введення атристаміну (100 мг/кг) упродовж 28 діб щурам не викликає достовірних відмінностей динаміки маси тіла, показників функціонального стану ЦНС, серця, сечовидільної та гепатобіліарної систем, загальних аналізів крові та сечі, не впливає на коефіцієнти маси внутрішніх органів, не змінює їх макроскопічний стан та гістоструктуру. Результати дослідження гострої та підгострої токсичності атристаміну на щурах свідчать про його низьку токсичність та безпечність тривалого (28 діб) внутрішньошлункового введення в умовно терапевтичній дозі.

11. Комплекс отриманих результатів обґрунтовує доцільність подальшої розробки та створення на основі оригінального вітчизняного активного фармацевтичного інгредієнта атристаміну лікарських препаратів антидепресивної дії з додатковими сприятливими властивостями (ноотропні, церебропротекторні, антигіпоксичні, аналгетичні), що дозволить підвищити ефективність та безпечність лікування депресивних та коморбідних розладів різної етіології.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Штриголь С. Ю., Зубков В. О., Подольський І. М., Гриценко І. С. Вплив похідних 3-амінометил-2-метилхінолін-4-ону на рівень моноамінів у головному мозку мишей. *Вісник фармації*. 2011. №1 (65). С. 62–65. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення фармакологічної частини експерименту, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

2. Штрыголь С. Ю., Зубков В. А., Подольский И. Н., Гриценко И. С. 2-Метил-3-фениламинометилхинолин-4-он – потенциальный антидепрессант с ноотропными свойствами. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2012. Т. 75, № 4. С. 7–9. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

3. Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Осташко В. Ф., Бездітко Н. В. Дослідження антигіпоксичної активності 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону – перспективного антидепресанта з ноотропними властивостями. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013. № 2 (25). С. 46–49. (*Особистий внесок: участь у плануванні експериментів, проведення дослідів, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

4. Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Гриценко І. С. Вплив перспективного антидепресанта з ноотропними властивостями 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону на фази пам’яті. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2013. Т. 8, № 4. С. 104–107. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення експерименту, аналіз даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

5. Подольский И. Н., Штрыголь С. Ю., Зубков В. А., Гриценко И. С. Взаимодействие перспективного антидепрессанта с ноотропными свойствами 2-метил-3-фениламинометилхинолин-4-она с веществами, возбуждающими и угнетающими ЦНС. *Медицинский вестник Юга России*. 2014. № 1. С. 80–84. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту, виконання дослідів, обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

6. Podolsky I. M., Shtrygol S. Yu. Neuroprotective activity of 2-methyl-3-phenylaminomethylquinolin-4-one in experimental traumatic brain injury in rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 7 (4). P. 518–524. (*Особистий внесок: планування експерименту, проведення дослідів, обробка даних, участь в аналізі та узагальненні результатів, написання статті*).

7. Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Лар’яновська Ю. Б. Експериментальне дослідження церебропротекторного впливу 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону на морфологічні порушення у структурах головного мозку щурів після черепно-мозкової травми. *Фармаком*. 2015. № 2. С. 68–76. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, виконання фармакологічної частини експерименту, участь в обробці результатів, їх аналізі та узагальненні, участь у написанні статті*).

8. Подольский И. Н., Штрыголь С. Ю. Исследование церебропротекторного влияния 2-метил-3-фениламинометилхинолин-4-она на изменения тинкториальных свойств нейронов в головном мозге крыс после черепно-мозговой травмы. *Вестник фармации*. 2015. № 3 (69). С. 86–91. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення фармакологічної частини експерименту, участь в обробці*

даних та узагальненні результатів, написання статті).

9. Подольський І. М., Штрыголь С. Ю. Дозозалежність ефектів перспективного антидепресанта з ноотропними властивостями 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону. *Клінічна фармація*. 2016. Т. 20, № 4. С. 46–51. (*Особистий внесок: планування експерименту, проведення дослідів, обробка даних, участь в аналізі та узагальненні результатів, написання статті*).

10. Podolsky I., Shtrygol S. The analgesic properties of a promising antidepressant – 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6, № 8. P. 156–160. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

11. Штриголь С. Ю., Подольський І. М., Каврайський Д. П. Поведінкові та нейротропні ефекти налоксону у мишей. *Клінічна фармація*. 2017. Т. 21, № 3. С. 29–34. (*Особистий внесок: участь у плануванні експерименту та виконанні дослідів, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

12. Подольський І. М., Штриголь С. Ю. Роль опіоїдергічної ланки антиноцицептивної системи в механізмі аналгетичної дії атристаміну. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 6 (56). С. 23–30. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

13. Podolsky I. M., Shtrygol' S. Yu., Zubkov V. O. The psycho- and neurotropic profiling of novel 3-(N-R,R'-aminomethyl)-2-methyl-1H-quinolin-4-ones *in vivo*. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2018. Vol. 26. P. 107–114. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу експерименту, проведення дослідів, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

14. Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Цивунін В. В. Порівняльний аналіз результатів *in vivo* скринінгу та *in silico* прогнозування психо- та нейротропних властивостей 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 1. С. 115–122. (*Особистий внесок: комп'ютерне прогнозування, обробка даних, участь в аналізі та узагальненні результатів, написання статті*).

15. Подольський І. М., Штриголь С. Ю. Дослідження норадренергічних механізмів аналгетичної дії атристаміну. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. № 3 (59). С. 31–36. (*Особистий внесок: планування експерименту, проведення дослідів, обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

16. Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Цивунін В. В. Варіативність впливу атристаміну та іміпраміну на депресивну поведінку мишей в аспекті циркадіанних чинників. *Клінічна фармація*. 2018. Т. 22, № 4. С. 34–41. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу експерименту, виконання дослідів, участь в обробці даних та узагальненні результатів, написання статті*).

17. Подольський І. М. Динаміка розвитку антидепресивного ефекту атристаміну при багаторазовому введенні. *Клінічна фармація*. 2019. Т. 23, № 1. С. 19–25.

18. Podolsky I., Shtrygol' S. The behavioral study of the effects of atristamine on the serotonin, dopamine and norepinephrine neurotransmitter systems in mice. *Farmacia*. 2019.

Vol. 67, № 2. P. 296–304. (*Особистий внесок: участь у плануванні та виконанні дослідів, обробка даних та участь в їх узагальненні, написання статті*).

19. Podolsky I., Shtrygol' S. The memory and learning enhancing effects of Atristamine. *Pharmacia*. 2019. Vol. 66, № 1. P. 13–18. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

20. Подольський І. М., Штриголь С. Ю. *In silico* дослідження можливих шляхів метаболізму атристаміну в організмі людини. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 3. С. 44–52. (*Особистий внесок: проведення комп'ютерного прогнозування, аналіз та обробка даних, участь в узагальненні результатів, написання статті*).

21. Подольський І. М., Литкін Д. В., Штриголь С. Ю., Цивунін В. В. Вплив атристаміну на прооксидантно-антиоксидантний баланс у головному мозку щурів після черепно-мозкової травми. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 41–47. (*Особистий внесок: планування та участь у проведенні експерименту, обробка даних, участь в аналізі результатів, написання статті*).

22. Подольський І. М., Литкін Д. В., Штриголь С. Ю. Дослідження гострої та підгострої токсичності перспективного антидепресанту атристаміну на щурах. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, № 1. С. 53-62. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення фармакологічної частини дослідів, участь в аналізі даних та узагальненні результатів, написання статті*).

23. Застосування 2-метил-3-феніламінометилхінолін-4-ону як засобу антигіпоксичної, актопротекторної та антиалкогольної дії : пат. 102900 на винахід Україна. № а 2011 13575 / С. Ю. Штриголь, І. М. Подольський, В. О. Зубков, І. С. Гриценко; заявл. 18.11.11 ; опубл. 27.08.13, Бюл. № 16. (*Особистий внесок: здійснення патентного пошуку, участь у розробці протоколу дослідів та їх самостійне виконання, аналіз даних, оформлення заявки*).

24. Подольский И. Н., Зубков В. А., Штрыголь С. Ю., Гриценко И. С. 3-Аминометил-2-метилхинолин-4-оны – перспективный класс биологически активных веществ психо- и нейротропного действия. *Научные стремления – 2011* : сб. материалов междунар. науч.-практ. конф. молодых учёных, г. Минск, 14–18 нояб. 2011 г. Т. 1. Минск : Белорусская наука, 2011. С. 860–864.

25. Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Зубков В. О., Гриценко І. С. Фармакологічні дослідження перспективного антидепресанту з ноотропними властивостями. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2011. № 5 (24) : IV Національний з'їзд фармакологів України : тези доп., м. Київ, 10–12 жовт. 2011 р. Київ, 2011. С. 252–253.

26. Штриголь С. Ю., Дроговоз С. М., Луцак І. В., Жиляєв С. О., Шатілов О. В., Щокіна К. Г., Подольський І. М., Колісник С. В., Штриголь Д. В., Мерзлікін С. І., Шатілова О. А. Пошук нових підходів до зменшення нейротоксичності етанолу. *Сучасні проблеми токсикології*. 2011. № 5 : Сучасні проблеми токсикології. Безпека їжі та середовища життєдіяльності людини : матеріали III з'їзду токсикологів України, м. Київ, 18–19 груд. 2011 р. Київ, 2011. С. 159–160.

27. Подольский И. Н., Штрыголь С. Ю., Гриценко И. С., Зубков В. А. Экспериментальное обоснование применения 2-метил-3-фениламинометилхинолин-

4-она в качестве антидепрессанта и нейропротектора. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2013. Т. 11 : Фармакологическая нейропротекция : материалы Всероссийской научн. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию Отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова Института экспериментальной медицины СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург, 18–21 сент. 2013 г. Санкт-Петербург, 2013. С. 118–119.

28. Подольский И. Н. Исследование церебропротекторных свойств перспективного антидепрессанта 2-метил-3-фениламинометилхинолин-4-она в условиях экспериментальной черепно-мозговой травмы. *Вестник ЮКГФА*. 2015. № 4 (73) : Перспективы развития биологии, медицины и фармации : материалы III Междунар. научн. конф. мол. учёных и студ., г. Шымкент, 9–10 дек. 2015 г. Тезисы, Том IV. Шымкент, 2015. С. 3–5.

29. Podolsky I. M. Aminomethylquinolones as promising agents against Alzheimer's disease. *Хист*. 2016. Вип. 18 : матеріали III Міжнар. мед.-фармацевт. конгр. студентів і мол. вчених, м. Чернівці, 6–8 квіт. 2016 р. Чернівці, 2016. С. 579.

30. Подольський І. М. Пошук сполук психо- та нейротропної дії в ряду амінометильованих похідних 2-метил-1Н-хінолін-4-онів. *Інновації в медицині: досягнення молодих вчених* : матеріали 40-вої ювілейної наук.-практ. конф. молодих вчених НМАПО ім. П. Л. Шупіка з міжнар. участю, присвяч. Дню науки, м. Київ, 18 трав. 2017 р. Київ, 2017. С. 53–55.

31. Подольський І. М., Штриголь С. Ю. Пошук сполук психо- та нейротропної дії в ряду 3-(N-R,R'-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів. *Фармакологія 2017 – крок у майбутнє* : тези доп. V Національного з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18–20 жовт. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 105.

32. Подольський І. М. Виявлення опіоїдергічного механізму анальгетичної дії атристаміну. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80-річчю з дня народж. д-ра фармацевт. наук, проф. О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12–13 квіт 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 95.

33. Подольський І. М., Штриголь С. Ю. Дослідження анальгетичних властивостей атристаміну. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації (до 50-річчя заснування ЗДМУ)* : зб. тез Всеукр. наук.-практ. конф., м. Запоріжжя, 18–25 квіт., 30 трав. 2018 р. Запоріжжя, 2018. С. 166.

34. Подольський І. М., Штриголь С. Ю., Цивунін В. В. Варіативність впливу атристаміну та іміпраміну на депресивність мишей в аспекті циркадіанних хронофізіологічних чинників. *Вікові та хронобіологічні аспекти медицини і фармації* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Чернівці, 4–5 жовт. 2018 р. Чернівці : БДМУ, 2018. С. 88–90.

35. Подольський І. М., Штриголь С. Ю. Аналгетичні властивості перспективного антидепресанта атристаміну. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20-й річниці засн. Дня фармацевт. працівника України, м. Харків, 19–20 вересня 2019 р., Т. 2. Харків : НФаУ, 2019. С. 259–260.

36. Штриголь С. Ю., Подольський І. М., Штриголь Д. В., Цивунін В. В. Методичні рекомендації з експериментального вивчення адиктивного потенціалу

хімічних речовин та їх здатності викликати фізичну залежність : метод. рек. Харків. 2019. 42 с. (*Особистий внесок: участь у розробці концепції, збір та аналіз даних, написання першого варіанту методичних рекомендацій, підготовка до друку*).

37. Інноваційні перспективи впровадження у медичну практику 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону як сполуки, що чинить антидепресивну та ноотропну активності : інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 55–2020 / уклад. І. М. Подольський, С. Ю. Штриголь. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. – 4 с. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу дослідів, їх виконання, аналіз даних, підготовка до друку*).

АНОТАЦІЯ

Подольський І. М. Експериментальне обґрунтування застосування 3-N-R,R′-амінометилзаміщених похідних хінолін-4-онів як психотропних засобів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія». – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2020.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової проблеми, пов'язаної з підвищенням ефективності та безпечності лікування депресивних та коморбідних розладів, шляхом дослідження інноваційного активного фармацевтичного інгредієнта 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону (атристаміну) з метою створення ефективного та безпечного антидепресанта з полімодальним впливом на ЦНС.

За сукупністю одержаних результатів атристамін позиціонується як антидепресант, який характеризується полімодальним впливом на ЦНС – додатково виявляє ноотропні, антигіпоксичні, алкопротекторні, актопротекторні, церебропротекторні та аналгетичні властивості. Поряд із низкою ефектів вторинної фармакодинаміки, серед позитивних рис атристаміну слід відзначити низьку токсичність та безпечність за багаторазового введення, швидкий розвиток антидепресивного ефекту, відсутність адиктивного потенціалу та здатності викликати фізичну залежність за доведеної участі опіоїдергічної системи у механізмі знеболювальної дії, відсутність проконвульсивних властивостей та потенціювання ефектів барбітуратів, алкопротекторну дію та здатність впливати не тільки на поведінкові реакції тварин на тлі черепно-мозкової травми, а й покращувати гістоструктуру головного мозку і знижувати неврологічний дефіцит.

Ключові слова: 3-(N-R,R′-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-они, 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-он, атристамін, психотропні властивості, антидепресивна активність, механізм дії, вторинна фармакодинаміка.

АННОТАЦИЯ

Подольский И. Н. Экспериментальное обоснование применения 3-N-R,R′-аминометилзамещенных производных хинолин-4-онов как психотропных средств. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.03.05 «Фармакология». – Национальный фармацевтический

университет МЗ Украины, Харьков, 2020.

В диссертации приведены теоретическое обобщение и новое решение научной проблемы, связанной с повышением эффективности и безопасности лечения депрессивных и коморбидных расстройств, путем исследования инновационного активного фармацевтического ингредиента 2-метил-3-(фениламинометил)-1Н-хинолин-4-она (атристамина) с целью создания эффективного и безопасного антидепрессанта с полимодальным влиянием на ЦНС.

По совокупности полученных результатов атристамин позиционируется как антидепрессант, который характеризуется полимодальным влиянием на ЦНС – дополнительно проявляет ноотропные, антигипоксические, алкопротекторные, актопротекторные, церебропротекторные и анальгетические свойства. Вместе с рядом эффектов вторичной фармакодинамики, среди положительных качеств атристамина следует отметить низкую токсичность и безопасность при многократном введении, быстрое развитие антидепрессивного эффекта, отсутствие аддиктивного потенциала и способности вызывать физическую зависимость при доказанном участии опиоидергической системы в механизме обезболивающего действия, отсутствие проконвульсивних свойств и потенцирования эффектов барбитуратов, алкопротекторную активность и способность влиять не только на поведенческие реакции животных после черепно-мозговой травмы, но и улучшать гистоструктуру головного мозга и снижать неврологический дефицит.

Ключевые слова: 3-(N-R,R′-аминометил)-2-метил-1Н-хинолин-4-оны, 2-метил-3-(фениламинометил)-1Н-хинолин-4-он, атристамин, психотропные свойства, антидепрессивная активность, механизм действия, вторичная фармакодинамика.

ABSTRACT

Podolsky I. M. The experimental substantiation of application of 3-N-R,R′-aminomethylsubstituted derivatives of quinolin-4-ones as psychotropic drugs. – The manuscript.

The thesis for a Doctor of Pharmaceutical Sciences Degree in the specialty 14.03.05 «Pharmacology». – National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The thesis is devoted to the theoretical generalization and a new solution of the scientific problem associated with improving the efficacy and safety of treatment of depressive and comorbid disorders by studying the innovative active pharmaceutical ingredient 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one (Atristamine) in order to create an effective and safe antidepressant with polymodal effects of the CNS.

The open field test, the elevated plus maze, the tail suspension test, the rotarod-test, the passive-avoidance test after scopolamine-induced amnesia and the model of acute normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia were used for the screening research of ten new 3-(N-R,R′-aminomethyl)-1H-quinolin-4-ones and four derivatives of 4-hydroxy-2-oxoquinoline-3-carboxamides in the doses of 10 and 100 mg/kg. According to the cumulative results of presented and own previous studies, 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one (Atristamine), that showed high antidepressant activity, anti-amnestic effect and psychostimulant properties in the dose of 100 mg/kg, was chosen for in-depth pharmacological study taking into account the set of effects.

Antidepressant properties of Atristamine were proved on the model of reserpine-induced depression in rats. It significantly reduced the degree of hypothermia and blepharoptosis in the both doses tested (10 and 100 mg/kg) and attenuated the depressant effect of reserpine in the open field test in the dose of 100 mg/kg. According to the results of dose-dependence study of the main effects of Atristamine, a conditionally effective dose of 100 mg/kg was found, which provides maximal antidepressant and anti-amnestic effects. During repeated administration, the antidepressant effect of Atristamine reached a significant level on the 4th day and continued to increase, on the 7th day reached the maximum level by all indicators of the tail suspension test and remained stable further. In the chronopharmacological study of the variability of the effect on depressive behavior of mice in the tail suspension test Atristamine had intense daily fluctuations of the effect and significantly reduced the total immobility time (marker of antidepressant activity) by 26.5 % only in the daytime (14:00-16:00).

Atristamine significantly reduced the concentration of serotonin in the brain of intact mice by 16.8 % ($p<0.05$), which indicates in favor of serotonin reuptake inhibition. It also increased the content of dopamine (by 22.0%) and adrenaline (by 13.0%). The pharmacological analysis with 5-hydroxytryptamine, haloperidol, L-dioxyphenylalanine and clonidine was carried out. It was shown, that Atristamine does not enhance or prolong 5-hydroxytryptophan-induced head-twitches phenomenon and L-dioxyphenylalanine-induced hyperactivity, which indicates no effect on the activity of monoamine oxidases. It also attenuates haloperidol catalepsy in mice and increases the sensitivity of the adrenergic system, as evidenced by enhancement of clonidine-induced aggressive behavior and attenuation of clonidine-induced depression. Therefore, the mechanism of antidepressant action of Atristamine may include inhibition of serotonin reuptake, as well as enhancement of adrenergic and dopaminergic processes in the brain.

The study of secondary pharmacodynamic effects of Atristamine was carried out. Atristamine showed antiamnestic activity, especially in the phases of consolidation of the memory engram (49.7 %) and its reproduction (65.1 %), in the passive avoidance test after scopolamine-induced amnesia in mice. In the Morris water maze, Atristamine (100 mg/kg) markedly enhanced the ability of rats to learn and store spatial memory engrams. It significantly reduced the distance to the platform by 5.1 times and the time to reach the platform by 3.2 times in comparison with intact control. On the model of acute normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia, Atristamine in the dose of 100 mg/kg significantly prolonged the lifespan of animals by 13.6%, but was ineffective on the models of acute hypobaric and acute hemic hypoxia. Atristamine (100 mg/kg) showed actoprotective properties in the weight-loaded swimming test prolonging the swimming time by almost three times ($p<0.05$) compared to intact control. Cerebroprotective effect of Atristamine (100 mg/kg) was proved on the model of mild traumatic brain injury in rats by reducing the neurological deficit, increasing of activity and emotional reactions (the open field test), improving muscle tone and coordination (the vertical screen test), reducing anxiety (the elevated plus maze), positive effect on cognitive functions (the extrapolation escape task) without deterioration of physical endurance (the weight-loaded swimming test). On this model of trauma, Atristamine most clearly demonstrated antidepressant activity in the Porsolt’s swimming test. Cerebroprotective properties of Atristamine were also confirmed histologically and morphometrically.

The safety studies of Atristamine showed, that after single intragastric introduction LD_{50} for mice is 6133±568 mg/kg (V toxicity class) and for rats – 4164±309 mg/kg (IV toxicity class). Furthermore, daily intragastric introduction of Atristamine (100 mg/kg) for 28 days in rats of both sexes did not cause significant differences in body weight dynamics, functional parameters of the CNS, heart, urinary and hepatobiliary systems, general blood and urine tests. In addition, it did not affect the mass coefficients of organs and did not change their macroscopic state and histostructure.

According to the cumulative results, Atristamine should be regarded as an antidepressant, which is characterized by polymodal effects on the CNS – additionally exhibits nootropic, antihypoxic, alcoprotective, actoprotective, cerebroprotective and analgesic properties. Low toxicity and safety after repeated administration, rapid development of antidepressant effect, lack of addictive potential and ability to cause physical dependence in spite of proven participation of opioid system in the mechanism of analgesic action, lack of convulsive properties and potentiation of the effects of barbiturates, alcoprotective action and the ability to influence not only the behavioral responses of animals after traumatic brain injury, but also to improve the brain histostructure and to reduce neurological deficit, should be noted among the positive features of Atristamine.

Key words: 3-(N-R,R′-aminomethyl)-2-methyl-1H-quinolin-4-ones, 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one, Atristamine, psychotropic properties, antidepressant activity, mechanism of action, secondary pharmacodynamics.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АА	– аналгетична активність	МЕТ	– метамізол натрію
АаА	– антиамнестична активність	МКЯ	– методики контролю якості
АдА	– антидепресивна активність	НГГГ	– нормобарична гіпоксична гіпоксія з гіперкапнією
АТР	– атристамін	ОК	– оцтовокислі корчі
ВЛМ	– водний лабіринт Морріса	ПЗН	– плавання з навантаженням
в/о	– внутрішньоочеревинно	ПІР	– пірацетам
ВП	– відкрите поле	ПОЛ-АОЗ	– пероксидне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист
ВСЕ	– вертикальний сітчастий екран	ПТП	– плавальний тест Порсолта
в/ш	– внутрішньошлунково	ПХЛ	– піднесений хрестоподібний лабіринт
ЕВ	– екстраполяційне вивільнення	п/ш	– підшкірно
ЕКГ	– електрокардіограма	СМК	– сенсомоторна кора
ЕТБ	– етилтіобензімідазол	ТІХ	– теплова іммерсія хвоста
ІК	– інтактний контроль	УРПУ	– умовна реакція пасивного уникнення
ІМІ	– іміпрамін	ФЕН	– фенібут
ІТП	– іммобілізаційний тест Порсолта	ЧМТ	– черепно-мозкова травма
КП	– контрольна патологія	L-ДОФА	– L-діоксифенілаланін
МЕЛ	– мелатонін		