

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 16, №2

2017



МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**

УДК 615.213

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ НОВОГО АТИПИЧНОГО НЕЙРОЛЕПТИКА
ДИАЗЛЕПТИНА, ПРОИЗВОДНОГО 1,2-ДИАЗАЦИКЛОПРОПАНА**© Шабанов П.Д.¹, Морозов А.И.², Лебедев А.А.², Бычков Е.Р.²¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

Резюме: изучали потенциальные нейролептические свойства производного 1,2-дизазациклопропана диазлептина в поведенческих, биохимических и электрофизиологических моделях. Диазлептин оказывал депримирующее действие в «открытом поле», антиглутаматное действие в «глутаматной модели шизофрении», улучшал когнитивные процессы у грызунов – облегчал выработку и сохранение условной реакции пассивного избегания (УРПИ). В то же время диазлептин не влиял на феномен «вертикализации» у мышей, не вызывал катаlepsии и не проявлял антагонизма с фенамином («дофаминовая модель шизофрении»), что характерно для типичных и атипичных нейролептиков, обладающих антидофаминергическим действием (галоперидол, оланзапин). Важно отметить, что диазлептин проявлял указанные выше свойства во всем диапазоне исследованных доз (5-10-25 мг/кг). Как правило, в опытах не регистрировали типичный дозозависимый эффект диазлептина. Например, если депримирующее действие в «открытом поле» несколько увеличивалось с возрастанием дозы, то облегчение выработки и сохранения УРПИ регистрировали во всех дозах (5-10-25 мг/кг). Диазлептин 25 мг/кг при хроническом введении (5 дней) умеренно повышал уровень серотонина и снижал концентрацию 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в стриатуме. При этом соотношение 5-ГИУК/серотонин снижалось (замедление обмена серотонина). В то же время диазлептин ни в одном из тестов не выявил дофаминергического действия, которое было характерно для препаратов сравнения – галоперидола 1 мг/кг и оланзапина 5 мг/кг. В модели с исследованием клеточных механизмов действия диазлептина на изолированных нейронах моллюска показано, что препарат в широком диапазоне концентраций (от 1 мкМ до 10 мМ) вызывал урежение частоты импульсной активности изолированных нейронов, которое происходило на фоне незначительной гиперполяризации. В этих же условиях эксперимента диазлептин подавлял входящие натриевые и кальциевые токи и оказывал двухфазное действие на медленные калиевые токи: в концентрациях 1×10^{-6} и $1 \cdot 10^{-5}$ М диазлептин их незначительно активировал, а в более высоких концентрациях – снижал. Все сказанное выше подтверждает наличие атипичного нейролептического (антипсихотического) эффекта у диазлептина, механизмом которого является антиглутаматный и функциональный антисеротониновый эффект, а также прямое снижение импульсной активности нейронов. Эффективной дозой диазлептина для поведенческих исследований следует считать дозу 10 мг/кг. Ее повышение вызывает более значимый депримирующий эффект, а уменьшение дозы до 5 мг/кг – появление ноотропоподобного действия.

Ключевые слова: нейролептики, диазлептин, галоперидол, оланзапин, механизм действия, поведенческие эффекты, обмен моноаминов, ионные токи

**PHARMACOLOGICAL PROFILE OF DIAZLEPTINE, 1,2-DIAZOCYCLOPROPANE DERIVATIVE,
A NEW ATYPICAL NEUROLEPTIC DRUG**Shabanov P.D.¹, Morozov A.I.², Lebedev A.A.², Bychkov E.R.²¹Kirov Military Medical Academy, Russia, 194044, St. Petersburg, Acad. Lebedev St., 6²Institute of Experimental Medicine, Russia, 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12

Summary: the potential neuroleptic properties of diazleptine, a derivative of 1,2-diazocyclopropane were studied in behavioral, biochemical and electrophysiological models. Diazleptine was shown to possess a sedative action in the open field, an antiglutamate effect in “glutamate model of schizophrenia”, and enhanced cognitive processes in rodents (facilitated formation and storage of passive avoidance task). At the same time diazleptine did not effect the “verticalization” phenomenon in mice, or induce catalepsy

and did not antagonize amphetamine hyperactivity in the “dopamine model of schizophrenia” that was characteristic for typical and atypical neuroleptics possessing an antidopaminergic action (haloperidol, olanzapine). It is necessary to stress that diazleptine acted as a rule in a dose-dependent manner in the range of all the doses studied (5-10-25 mg/kg). For example, if the sedative action of diazleptine in the open field increased with the elevation of the dose, the facilitation of formation and storage of passive avoidance reaction was registered in all the doses studied (5-10-25 mg/kg). Chronic administration of diazleptine (25 mg/kg) during 5 days increased serotonin level mildly and decreased 5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA) concentration in the striatum, ratio 5-HIAA/serotonin being decreased (serotonin turnover was slowed). At the same time, diazleptine produced no dopaminergic effect in all the tests that was typical for the comparative drugs (haloperidol 1 mg/kg and olanzapine 5 mg/kg). Besides, diazleptine in a wide range of concentrations (from 1 μ M till 10 mM) decreased impulse activity frequency of the isolated neurons of the mollusc on the background of slight hyperpolarization (a cell model of isolated neurons). In the same experimental conditions, diazleptine slightly inhibited the influx of sodium and calcium currents and acted biphasically on slow potassium currents: in the concentrations of 1×10^{-6} and 1×10^{-5} M diazleptine activated them slightly, and in higher concentrations inhibited them. All the above-mentioned findings reveal the presence of an atypical neuroleptic (antipsychotic) effect in diazleptine with the antiglutamate and functional antiserotonergic mechanism of action as well as a direct reduction of impulse activity of neurons. The effective dose of diazleptine for behavioral studies should be 10 mg/kg. After elevation of the dose, diazleptine strengthens its sedative effect and after reduction of the dose up to 5 mg/kg diazleptine performs a nootropic-like effect.

Key words: neuroleptics, diazleptine, haloperidol, olanzapine, mechanism of action, behavioral effects, monoamine turnover, ionic currents

Введение

Разработка новых антипсихотических средств (нейролептиков), особенно с атипичным механизмом действия, остается важной и актуальной проблемой психофармакологии. Со времени появления ларгактила (аминазина) в начале 1950 г. основное внимание исследователей было сосредоточено на поиске подобных средств среди производных фенотиазина (с алифатическим, пиперазиновым и пиперидиновым радикалами), бутирофенона (галоперидол, дроперидол, трифлуперидол), тиоксантена (зуклопентиксол, хлорпротиксен), дифенилбутилпиперидина (пимозид, флуспирилен, пенфлуридол), дибензодиазепина (клозапин, оланзапин), бензамида (сулирид, тиаприд, султоприд, ремоксиприд, амосулприд, метоклопрамид), пиримидина и имидазолидинона (рисперидон, сердиндол, зипразидон), индола (карбидин, молиндон) и ряда других гетероциклических соединений [7, 8]. В то же время, как потенциальные психотропные средства рассматриваются и производные диазиридина (1,2-диазациклопропаны), содержащие в своем трехчленном ядре два атома азота [4]. В последнее время производные диазиридина позиционируются как психотропные средства [17], главным образом антидепрессантного [16] и депримирующего [9, 10] типа действия, а также как средства лечения нейродегенеративных заболеваний [14]. Антидепрессантное действие было доказано исследованиями *in vitro* по угнетению моноаминоксидазы [16], а анксиолитические свойства подтверждены поведенческими и электрофизиологическими исследованиями [11, 12], сравнительно недавно выполненными в нашей лаборатории. Это позволило нам расширить круг исследований из производных диазиридина, что привело к открытию средства, обладающего свойствами атипичного нейролептика [10], названного нами диазлептином.

Целью работы было доклиническое изучение нейролептической активности нового производного диазиридина препарата диазлептина в дозах 5-10-25 мг/кг в сравнении с нейролептиками галоперидолом (1 мг/кг) и оланзапином (5 мг/кг) на грызунах (крысы, мыши).

Методика

Опыты выполнены на 134 крысах самцах Вистар массой 180-200 г и 162 беспородных мышках самцах массой 18-22 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Эффекты диазлептина (5-10-25 мг/кг) и препаратов сравнения галоперидола (Гедеон Рихтер, Венгрия; 1 мг/кг) и оланзапина (5 мг/кг), вводимых внутривенно, оценивали в батарее поведенческих тестов (тест «вертикализации», «открытое поле», каталептогенное действие, по антагонизму в тесте «глутаматной модели шизофрении», «дофаминовой модели шизофрении» в «открытом поле», выработки и сохранения условной реакции пассивного избегания) в соответствии с требованиями «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» для нейролептиков [5, 6]. Механизм действия диазлептина исследовали по его влиянию (25 мг/кг) на содержание и обмен дофамина и серотонина в

стриатуме головного мозга крыс, измеренных методом ВЭЖХ с электрохимическим детектором [3]. Также исследовали влияние диазлептина в диапазоне концентраций от 10 мМ (10^{-2} М) до 10^{-6} М (1 мкМ) при внеклеточном приложении на частоту импульсной активности изолированных нейронов моллюска катушки роговой (*Planorbarius corneus*) и на входящие натриевые, медленные калиевые и кальциевые токи изолированных идентифицированных pedalных нейронов моллюска [1, 2, 13, 15].

Для статистической обработки полученных количественных данных и построения графиков применяли пакеты программ Graph Pad Prizm v.4; SPSS Sigma Stat 3.0 и Minitab 14. В качестве статистических критериев использовали традиционные показатели описательной статистики. Для сравнения контрольной и экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, а также критерии попарных сравнений групп Стьюдента-Ньюмена-Кейлса и Данна. Из непараметрических критериев использовали критерий Краскела-Уоллиса для сравнения групп. Для оценки соответствия распределений случайных величин гауссовым применяли критерий нормальности Колмогорова-Смирнова.

Результаты исследования и их обсуждение

В поведенческих опытах на грызунах показано, что диазлептин обладает свойствами атипичного нейролептика. Подтверждение этого являются следующие, приведенные ниже эксперименты.

Изучение эффектов диазлептина в тесте «вертикализации», вызванной апоморфином у мышей. Апоморфин 1 мг/кг подкожно индуцировал феномен «вертикализации», когда число баллов стереотипии увеличивалось более чем в 20 раз в сравнении с интактными и контрольными (физиологический раствор) мышами. Галоперидол 1 мг/кг, вводимый за 30 мин. до апоморфина, полностью устранял его стереотипное действие (табл. 1). Диазлептин во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг), введенный за 30 мин. до апоморфина, незначительно снижал его эффекты (данные не достоверны).

Таблица 1. Влияние диазлептина и галоперидола на поведение мышей в тесте «вертикализации», вызванном апоморфином

Показатели	Физ. р-р	Апоморфин 1 мг/кг	Апоморфин + Галоперидол 1 мг/кг	Апоморфин + диазлептин 5 мг/кг	Апоморфин + диазлептин 10 мг/кг	Апоморфин+ диазлептин 25 мг/кг
Вертикализация (баллы)	0,777± 0,277	17,440± 0,337	0,222± 0,147 ***	15,780± 0,662 vvv	16,110± 0,538 vvv	15,890± 0,538 vvv

Примечание. * – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «апоморфин», ^v – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «галоперидол», ***, vvv – p<0,001. Животные получали внутрибрюшинно инъекцию галоперидола 1 мг/кг или диазлептина в дозе 5-10-25 мг/кг за 30 мин. до введения апоморфина 1 мг/кг подкожно и за 1 ч. до посадки животных в установку, поведение оценивали в течение 90 мин. через каждые 10 мин. в баллах. Группа интактных животных не представлена в таблице, поскольку значения были близки к группе крыс, получавших физиологический раствор (контроль)

Следовательно, диазлептин в дозах 5 мг/кг, 10 мг/кг и 25 мг/кг не препятствует развитию феномена «вертикализации» у мышей, индуцируемого апоморфином 1 мг/кг. Это указывает на отсутствие прямых антидофаминовых эффектов диазлептина. В то же время, галоперидол 1 мг/кг полностью предотвращал «вертикализацию», вызванную апоморфином, что указывает на типичный антидофаминовый эффект галоперидола.

Изучение эффектов диазлептина в тесте «открытое поле» у крыс. В тесте «открытое поле» галоперидол 1 мг/кг выявлял сильный депримирующий эффект на все показатели: он в 8 раз подавлял горизонтальную, в 22 раза – вертикальную, в 24 раза – исследовательскую активность и в 5,5 раз – эмоциональность. Эффект диазлептина зависел от исследуемой дозы (табл. 2). Максимальный эффект диазлептина проявлял в дозе 25 мг/кг, снижая в основном вертикальную двигательную (в 7 раз), исследовательскую (в 3 раза) активность и эмоциональность (в 2 раза). Горизонтальная двигательная активность при этом угнеталась умеренно (на 58%). Эффект диазлептина 10 мг/кг и 5 мг/кг был существенно ниже, чем в дозе 25 мг/кг, и касался подавления в основном исследовательской активности. В то же время было отмечено даже растормаживание (повышение) горизонтальной активности после введения диазлептина 5 мг/кг (после введения 10 мг/кг растормаживание регистрировали так же, но данные не были достоверными).

Таблица 2. Влияние диазлептина и галоперидола на поведение мышей в тесте «открытое поле» у крыс

Показатели	Физ. р-р	Галоперидол 1 мг/кг	Диазлептин 5 мг/кг	Диазлептин 10 мг/кг	Диазлептин 25 мг/кг
Число пересеченных квадратов	27,40±2,98	3,50±0,82 ***	38,10±3,33 *, vvv	35,40±2,42 vvv	17,40±4,06 *, vv, ###, &
Вертикальная активность	2,200±0,573	0,100±0,100 *	3,000±1,022 vv	2,700±0,558 vv	0,300±0,152 *, #, &
Число заглядываний в норки	7,400±1,310	0,300±0,152 ***	5,70±1,375 *, vv	2,700±0,955 **	2,400±0,733 **
Болюсы дефекаций	1,100±0,546	0,200±0,133	0,600±0,426	0,200±0,200	0,600±0,400

Примечание. * – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «физ. р-р», v – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «галоперидол», # – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «диазлептин 5 мг/кг», & – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «диазлептин 10 мг/кг». *, v, #, & p<0,05, **, vv, ##, && p<0,01, ***, vvv, ###, &&& p<0,001. Крысы получали внутривенно инъекцию галоперидола 1 мг/кг или диазлептина в дозах 5-10-25 мг/кг за 1 ч. до посадки в установку, поведение оценивали в течение 3 мин. Группа интактных животных не представлена в таблице, поскольку значения были близки к группе мышей, получавших физиологический раствор (контроль)

Следовательно, галоперидол 1 мг/кг оказывает типичное, сильно выраженное подавляющее действие на все формы поведения в тесте «открытое поле» (типичный нейролептический депримирующий эффект). Диазлептин выявил дозозависимое действие на поведение. В дозе 25 мг/кг диазлептин в меньшей степени, чем галоперидол, подавлял все формы поведения, а в дозе 10 мг/кг и 5 мг/кг оказывал умеренное угнетающее действие на исследовательскую активность и растормаживал горизонтальную двигательную активность. Последний феномен характерен для атипичных нейролептиков.

Изучение каталептогенных эффектов диазлептина у мышей. Галоперидол 1 мг/кг вызывал типичный каталептогенный эффект, заключающийся в длительном поддержании искусственно приданной позы у животных (табл. 3). Время нахождения в ней увеличилось с 0,7±0,3 с до 127,6±17,5 с после введения галоперидола. Диазлептин во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг) в течение 1 ч. не вызывал каталепсии у мышей.

Таблица 3. Каталептогенный эффект диазлептина и галоперидола у мышей

Показатели	Физ. р-р (контроль)	Галоперидол 1 мг/кг	Диазлептин 5 мг/кг	Диазлептин 10 мг/кг	Диазлептин 25 мг/кг
Каталепсия, с	0,70±0,30	127,6±17,5 ***	0,40±0,22 vvv	0,30±0,15 vvv	0,60±0,26 vvv

Примечание. * – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «контроль», v – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «галоперидол», ***, vvv – p<0,001. Тест проводили через 1 ч. после введения препаратов. Группа интактных животных не представлена в таблице, поскольку значения были близки к группе крыс, получавших физиологический раствор (контроль)

Следовательно, диазлептин в дозах 5-10-25 мг/кг не обладал каталептогенным действием. Напротив, классический нейролептик галоперидол вызывал четкую и длительную каталепсию, связанную с блокадой дофаминергических рецепторов нигростриатной системы мозга.

Изучение эффектов диазлептина в тесте «глутаматергическая модель шизофрении» в «открытое поле» у мышей. Моделирование «глутаматергической модели шизофрении» проводили введением антагониста рецепторов глутамата МК-801 0,3 мг/кг, вызывающем двигательную активацию в «открытое поле» у мышей. Эффекты галоперидола 1 мг/кг, оланзапина 5 мг/кг и диазлептина 5-10-25 мг/кг оценивали, вводя их за 30 мин до инъекции МК-801 (табл. 4). У контрольных животных МК-801 0,3 мг/кг более чем в 3 раза повышал горизонтальную двигательную активность, в 2 раза снижал вертикальную активность и не менял исследовательской активности мышей.

Галоперидол 1 мг/кг и оланзапин 5 мг/кг, вводимые за 30 мин. до инъекции МК-801, не только полностью препятствовали действию МК-801, но и выражено угнетали все формы поведения мышей в «открытом поле» (горизонтальную, вертикальную двигательную и исследовательскую активность). Диазлептин во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг) вдвое снижал активированную МК-801 горизонтальную активность, не менял эффекты МК-801 на вертикальную

двигательную активность и умеренно подавлял исследовательскую активность в сравнении с контрольной группой животных и введением МК-801.

Таблица 4. Влияние диазлептина, галоперидола и оланзапина на поведение мышей в тесте «открытое поле» после введения МК-801 («глутаматная модель шизофрении»)

Показатели	Физ. p-p	МК-801	МК-801 + Галоперидол 1 мг/кг	МК-801 + Оланзапин 5 мг/кг	МК-801 + Диазлептин 5 мг/кг	МК-801 + Диазлептин 10 мг/кг	МК-801 + Диазлептин 25 мг/кг
Число пересеченных квадратов	65,30± 4,676	191,2± 15,11 ***	3,700± 1,506 ***, vvv	5,500± 2,464 ***, vvv	108,9± 11,74 **, vvv, ###, &&&	96,20± 9,732 vvv, ###, &&&	95,90± 9,642 vvv, ###, &&&
Вертикальная активность	14,10± 2,37	7,20± 1,66 **	0,400± 0,221 ***, vv	0,600± 0,266 ***, vv	5,400± 0,979 **, #, &	7,50± 1,45 **, ##, &&	9,60± 1,68 *, ###, &&&
Число заглядываний в норки	7,20± 0,87	7,50± 0,95	0,800± 0,290 ***, vvv	0,600± 0,266 ***, vvv	5,10± 0,86 ###, &&&	5,70± 0,95 ###, &&&	5,90± 0,88 ###, &&&

Примечание. * – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «физ. p-p», v – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «МК-801», # – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «МК-801+галоперидол», & – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «МК-801+оланзапин». *, v, #, & – p<0,05, **, vv, ##, && – p<0,01, ***, vvv, ###, &&& – p<0,001. Группа интактных животных не представлена в таблице, поскольку значения были близки к группе крыс, получавших физиологический раствор (контроль)

Следовательно, в тесте «глутаматергической модели шизофрении», оцененной в «открытом поле» после введения антагониста рецепторов глутамата МК-801 0,3 мг/кг, нейролептики галоперидол 1 мг/кг и оланзапин 5 мг/кг проявляют полный антагонизм в отношении МК-801. Диазлептин во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг) проявил антагонизм в отношении МК-801 по показателям горизонтальной и исследовательской активности. Это указывает на эффективность диазлептина как атипичного нейролептики в данном тесте и подразумевает антиглутаматное действие диазлептина.

Изучение эффектов диазлептина в тесте «дофаминергическая модель шизофрении» в «открытое поле» у мышей. Моделирование «дофаминовой модели шизофрении» проводили введением непрямого агониста рецепторов дофамина фенамина 1 мг/кг, вызывающем двигательную активацию в «открытое поле» у мышей. Эффекты галоперидола 1 мг/кг, оланзапина 5 мг/кг и диазлептина 5-10-25 мг/кг оценивали, вводя их за 30 мин. до инъекции фенамина.

У контрольных животных фенамин 1 мг/кг на 48% повышал горизонтальную двигательную активность, не менял вертикальную активность и на 57% подавлял исследовательскую активность мышей (табл. 5).

Галоперидол 1 мг/кг и оланзапин 5 мг/кг сходным образом не только препятствовали активирующему действию фенамина, но и более чем в 2 раза подавляли горизонтальную двигательную активность в «открытом поле» в сравнении с контролем, в 10 раз снижали вертикальную двигательную активность и умеренно подавляли исследовательскую активность (главным образом галоперидол). Диазлептин во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг) не препятствовал активирующему действию фенамина на горизонтальную активность и подавляющему его действию на исследовательскую активность.

Следовательно, в тесте «дофаминовой модели шизофрении», оцененной в «открытом поле» после введения непрямого агониста рецепторов дофамина фенамина 1 мг/кг, нейролептики галоперидол 1 мг/кг и оланзапин 5 мг/кг проявляли полный антагонизм в отношении фенамина. Диазлептин во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг) не проявил антагонизма в отношении фенамина по показателям горизонтальной и исследовательской активности. Это указывает на отсутствие антидофаминового действия у диазлептина в данном тесте.

Таблица 5. Влияние галоперидола, оланзапина и диазлептина на поведение на поведение мышей в тесте «открытое поле» после введения фенамина («дофаминовая модель шизофрении»)

Показатели	Физ. р-р	Фенамин 1 мг/кг	Фенамин 1 мг/кг + Галопе- ридол 1 мг/кг	Фенамин 1 мг/кг + Оланза- пин 5 мг/кг	Фенамин 1 мг/кг + Диаз- лептин 5 мг/кг	Фенамин 1 мг/кг + Диаз- лептин 10 мг/кг	Фенамин 1 мг/кг + Диаз- лептин 25 мг/кг
Число пересеченных квадратов	65,30± 4,676	96,30± 10,79 *	27,20± 5,434 **, vvv	29,20± 4,312 **, vvv	89,60± 7,431 ###, &&&	87,20± 7,637 ###, &&&	86,60± 8,07 ###, &&&
Вертикальная активность	14,10± 2,37	12,50± 2,03	1,400± 0,777 ***, vvv	1,600± 0,763 ***, vvv	10,40± 1,69 ###, &&&	13,10± 1,65 ###, &&&	12,10± 1,69 ###, &&&
Число заглядываний в норки	7,20± 0,87	4,60± 1,06	3,00± 0,74 *	3,90± 0,79	4,50± 0,84	3,80± 1,17	3,90± 1,09

Примечание. * – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «физ р-р», v – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «фенамин», # – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «фенамин+галоперидол», & – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «фенамин+оланзапин». *, v, #, & – p<0,05, **, vv, ##, && – p<0,01, ***, vvv, ###, &&& – p<0,001. Группа интактных животных не представлена в таблице, поскольку значения были близки к группе крыс, получавших физиологический раствор (контроль)

Изучение эффектов диазлептина на обучение и сохранение условной реакции пассивного избегания у крыс. В данном эксперименте препараты вводили до обучения (до посадки животного в светлую камеру в первый день опыта) и впоследствии делали заключение о механизмах формирования памятного следа (консолидации энграммы). При исследовании условной реакции пассивного избегания (УРПИ) было показано, что в день обучения крысы на фоне действия препаратов сравнения (галоперидол 1 мг/кг и оланзапин 5 мг/кг) не проявляли безусловной реакции стремления находиться в темном отсеке в силу их высокой нейролептической и/или седативной активности (то есть не обучались УРПИ). Животные после введения галоперидола 1 мг/кг и оланзапина 5 мг/кг в течение всего времени исследования находились в светлом отсеке. У исследуемого вещества диазлептина такая выраженная активность не отмечалась. Однако после введения диазлептина время в светлой камере все же было достоверно выше по сравнению с показателями у животных с введением физиологического раствора, что говорит об умеренном седативном действии препарата (табл. 6).

Таблица 6. Влияние диазлептина, галоперидола и оланзапина на формирование и сохранение УРПИ у крыс

Показатели	Физ. р-р	Галопе- ридол 1 мг/кг	Оланза- пин 5 мг/кг	Диазлептин 5 мг/кг	Диазлептин 10 мг/кг	Диазлепти н 25 мг/кг
1 день – обучение						
Время в светлой камере, с	19,0±4,9	180,0±0,0	180,0±0,0	44,1±9,5	67,9±8,8 **	72,1±12,2 **
2 день – тест на сохранение УРПИ						
Время в светлой камере, с	99,6±8,1	теста нет	теста нет	109,6±19,9	97,90±25,3	93,20±22,7
Соотношение Время в светлом камере при тестировании / Время в светлой камере при обучении	5,24±0,42	0	0	2,49±0,45 **	1,44±0,37	1,29±0,31

Примечание. * – p<0,05; ** – p<0,01 в сравнении данных с экспериментальной группой «физ. р-р» (контроль)

Во 2-й день эксперимента электрический ток не подавали на пол темного отсека и регистрировали сохранение УРПИ по времени пребывания животного в светлом отсеке. Вещества сравнения в данном случае не рассматривали, так как в первый день эксперимента крысы не заходили в темный отсек на фоне их введения и, соответственно, не получали электрический ток по лапам (не обучились УРПИ). В наших исследованиях животные опытной группы (введение диазлептина) разделились на 2 подгруппы. Часть животных проводила больше времени в светлой камере по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об умеренном стимулирующем память (ноотропоподобном) действии препарата. В то же время другие крысы с введением диазлептина предпочитали находиться практически все время опыта в темном отсеке, что говорит о развитии амнезии на отрицательное подкрепляющее действие электрического тока.

Если оценивать дозозависимое действие диазлептина на сохранение УРПИ, то видно, что препарат во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг) оказывает умеренное стимулирующее действие на выработку и сохранение навыка. Это видно из увеличения показателя времени пребывания в светлой камере при тестировании УРПИ на 2-е сут после обучения и, особенно, по показателю соотношения время в светлой камере при тестировании/время в светлой камере при обучении. Например, в случае введения диазлептина 5 мг/кг это соотношение оценивалось как $2,49 \pm 0,45$ ($p < 0,01$). В дозах 10 мг/кг и 25 мг/кг такого увеличения соотношения не отмечали, но регистрировали увеличение времени пребывания в светлой камере ($p < 0,05$), то есть облегчение формирования УРПИ.

Следовательно, галоперидол 1 мг/кг и оланзапин 5 мг/кг полностью блокируют выработку УРПИ у крыс. В наших исследованиях крысы, которым вводили диазлептин (5-10-25 мг/кг) разделились на две противоположные по влиянию на память группы: у одной группы выработка УРПИ (формирование энграммы) достоверно облегчалось, у другой – несколько тормозилась. Контрольная группа крыс в этом плане была достаточно однородной, принимая промежуточные значения. В целом диазлептин во всех исследованных дозах (5-10-25 мг/кг) облегчал выработку и сохранение УРПИ у крыс, проявляя ноотропоподобный эффект.

Изучение эффектов диазлептина на содержание дофамина, серотонина и их метаболитов в стриатуме крыс. Крысам в течение 5 дней вводили галоперидол 1 мг/кг или диазлептин 25 мг/кг. На 5-й день через 2 ч. после последнего введения препаратов животных декапитировали, извлекали головной мозг, выделяли стриатум (дофаминергическая структура мозга) и определяли в нем содержание дофамина и его метаболитов (диоксифенилуксусной кислоты – ДОФУК и гомованилиновой кислоты – ГВК), а также соотношение ДОФУК/дофамин и ГВК/дофамин, характеризующее скорость обмена дофамина.

Галоперидол 1 мг/кг при хроническом (в течение 5 дней) введении увеличивал содержание ДОФУК и ГВК в стриатуме, повышая соотношение ДОФУК/дофамин и ГВК/дофамин, что указывает на ускорение обмена дофамина под влиянием этого нейролептика. Диазлептин не менял данных показателей, что свидетельствует об отсутствии у нее дофаминергического действия (табл. 7).

Таблица 7. Влияние диазлептина и галоперидола при хроническом введении на содержание дофамина и его метаболитов в стриатуме крыс

Группа животных	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА
Физ. р-р	4,457 $\pm 0,714$	0,483 $\pm 0,050$	0,131 $\pm 0,014$	0,115 $\pm 0,010$	0,030 $\pm 0,002$
Галоперидол 1 мг/кг	4,717 $\pm 0,513$	0,776 $\pm 0,048^{***}$	0,353 $\pm 0,029^{***}$	0,173 $\pm 0,019^*$	0,078 $\pm 0,007^{***}$
Диазлептин 25 мг/кг	4,268 $\pm 0,478$	0,444 $\pm 0,041^{vv}$	0,143 $\pm 0,014^{vv}$	0,109 $\pm 0,012^v$	0,035 $\pm 0,005^{vv}$

Примечание. Содержание моноаминов представлено в нг/мг ткани. Препараты вводили в течение 5 дней ежедневно. Декапитацию осуществляли через 2 ч. после последнего введения препаратов. * – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «физ. р-р», v – достоверности различий при сравнении данных с экспериментальной группой «галоперидол». * , v – $p < 0,05$, ** , vv – $p < 0,01$, *** , vvv – $p < 0,001$

Совершенно иные закономерности были получены при анализе содержания серотонина (СЕР) и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в стриатуме (табл. 8). В этом случае галоперидол 1 мг/кг при хроническом введении крысам (5 дней) не менял концентраций серотонина и его метаболита 5-ГИУК, равно как и отношение 5-ГИУК/серотонин в стриатуме, что указывает на отсутствие в его действии серотонинергического компонента. Напротив, диазлептин 25 мг/кг (5 дней) умеренно повышал уровень серотонина и снижал концентрацию 5-ГИУК в

стриатуме. При этом соотношение 5-ГИУК/серотонин на 35% снижалось ($p < 0,05$). Это свидетельствует о наличии у диазлептина серотонинергического (точнее антисеротонинового) действия.

Таблица 8. Влияние диазлептина и галоперидола при хроническом введении на содержание серотонина и его метаболитов в стриатуме крыс

Группа животных	СЕР	5-ГИУК	5-ГИУК/СЕР
Физ. р-р	0,488±0,026	0,309±0,015	0,638±0,035
Галоперидол 1 мг/кг	0,517±0,041	0,291±0,010	0,577±0,0396
Диазлептин 25 мг/кг	0,572±0,047	0,260±0,017	0,472±0,0518*

Примечание. Примечание: содержание моноаминов представлено в нг/мг ткани. Препараты вводили в течение 5 дней ежедневно. Декапитацию осуществляли через 2 ч. после последнего введения препаратов. * – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля («физ. р-р»).

Следовательно, хроническое (в течение 5 дней) введение галоперидола 1 мг/кг приводило к увеличению содержания ДОФУК и ГВК в стриатуме, повышению соотношения ДОФУК/дофамин и ГВК/дофамин, что указывает на ускорение обмена дофамина под влиянием этого нейролептика. Диазлептин не менял данных показателей, что свидетельствует об отсутствии у него дофаминергического действия. В то же время галоперидол не менял концентраций серотонина и его метаболита 5-ГИУК в стриатуме. Напротив, диазлептин 25 мг/кг (5 дней) умеренно повышал уровень серотонина и снижал концентрацию 5-ГИУК в стриатуме. При этом соотношение 5-ГИУК/серотонин снижалось (замедление обмена серотонина). Полученные факты свидетельствуют о наличии у диазлептина серотонинергического (точнее антисеротонинового) действия.

Кроме того, диазлептин в широком диапазоне концентраций (от 10 мкМ до 10 мМ) вызывал урежение частоты импульсной активности изолированных нейронов моллюсков, которое происходило на фоне незначительной гиперполяризации (эксперименты А.И. Вислобокова). В этих же условиях эксперимента диазлептин умеренно подавлял входящие натриевые токи (не меняя кальциевых) и оказывал 2-фазное действие на медленные калиевые токи: в концентрациях 1×10^{-6} и 1×10^{-5} М препарат их незначительно активировал, а в более высоких концентрациях – снижал.

Таким образом, в поведенческих исследованиях диазлептин оказывал депримирующее действие в «открытом поле», антиглутаматное действие в «глутаматной модели шизофрении», улучшал когнитивные процессы у грызунов (облегчал выработку и сохранение УРПИ). В то же время диазлептин не влиял на феномен «вертикализации» у мышей, не вызывал каталепсии и не проявлял антагонизма с фенамином («дофаминовая модель шизофрении»), что характерно для типичных и атипичных нейролептиков, обладающих антидофаминергическим действием (галоперидол, оланзапин). Важно отметить, что диазлептин проявлял указанные выше свойства во всем диапазоне исследованных доз (5-10-25 мг/кг).

При доклинических исследованиях нейролептиков всегда обращают внимание на ряд характерных эффектов. Во-первых, это депримирующий тип действия препаратов, увеличивающийся с возрастанием дозы [5]. Во-вторых, наличие достаточно типичных для нейролептиков феноменов типа «вертикализации», каталепсии, антагонизма с апоморфином или амфетамином и аналогичных [6]. Наконец, безусловным преимуществом рассматривается отсутствие отрицательного действия на когнитивные процессы, по крайней мере, в малых дозах исследованных препаратов [8, 10]. Касательно диазлептина, следует отметить ряд его особенностей. Как правило, в наших опытах не регистрировали типичный дозозависимый эффект диазлептина. Например, если депримирующее действие в «открытом поле» несколько увеличивалось с возрастанием дозы, то облегчение выработки и сохранения УРПИ регистрировали во всех дозах (5-10-25 мг/кг). Для диазлептина не выявлено влияния на феномен «вертикализации» и каталептогенного действия в исследуемых дозах. Наконец, диазлептин не проявлял антагонизма с фенамином. Возникает обоснованный вопрос о правильности отнесения диазлептина к классу нейролептиков. Действительно, на основе полученных результатов доклинических исследований диазлептин нельзя рассматривать как типичный нейролептик. В то же время, даже если обратиться к национальным руководствам, регламентирующим доклинические исследования, в том числе и психотропных средств [5, 6], в них, как правило, не выделяется облигатных (обязательных) и факультативных (вспомогательных) свойств принадлежности к тому или иному классу. Более того, многие тесты, включенные в данные руководства, просто устарели и не могут быть четким ориентиром для классификационного отнесения исследуемых соединений к тому или иному классу веществ, в нашем случае нейролептиков. На период их составления нейролептики почти исключительно выделялись как средства с антидофаминовым механизмом действия и, собственно, он и изучался (антагонизм с

апоморфином и амфетамином, каталептогенный эффект и т. д.). В нашем случае мы имеем дело с соединением, механизмом нейролептического действия которого можно рассматривать антиглутаматную и антисеротониновую активность, а не антидофаминовые свойства препарата. Это подтверждается, в частности, фактами, что диазлептин 25 мг/кг при хроническом введении (5 дней) умеренно повышал уровень серотонина и снижал концентрацию 5-гидроксиуксусной кислоты (5-ГИУК) в двигательных подкорковых структурах мозга (стриатуме). При этом соотношение 5-ГИУК/серотонин снижалось (замедление обмена серотонина). В то же время диазлептин ни в одном из тестов не выявил дофаминергического действия, которое было характерно для препаратов сравнения – галоперидола 1 мг/кг и оланзапина 5 мг/кг. В модели с исследованием клеточных механизмов действия диазлептина на изолированных нейронах моллюска показано, что препарат в широком диапазоне концентраций (от 1 мкМ до 10 мМ) вызывал урежение частоты импульсной активности изолированных нейронов, которое происходило на фоне незначительной гиперполяризации. Это указывает на типичный депримирующий эффект препарата [1, 2]. В этих же условиях эксперимента диазлептин подавлял входящие натриевые и кальциевые токи и оказывал двухфазное действие на медленные калиевые токи: в концентрациях 1×10^{-6} и 1×10^{-5} М диазлептин их незначительно активировал, а в более высоких концентрациях – снижал. Данный факт вполне может объяснить положительный эффект диазлептина на формирование и сохранение УРПИ, то есть, его положительное влияние на когнитивные процессы, что характерно для атипичных нейролептиков [7, 8]. Все сказанное выше подтверждает наличие атипичного нейролептического (антипсихотического) эффекта у диазлептина, механизмом которого является антиглутаматный и функциональный антисеротониновый эффект, а также прямое снижение импульсной активности нейронов. Эффективной дозой диазлептина для поведенческих исследований следует считать дозу 10 мг/кг. Ее повышение вызывает более значимый депримирующий эффект, а уменьшение дозы до 5 мг/кг – появление ноотропоподобного действия.

Заключение

Полученные экспериментальные данные подтверждают наличие у диазлептина свойств атипичного нейролептика. Предполагаемым механизмом фармакологического действия диазлептина можно рассматривать антиглутаматное и антисеротониновое действие препарата, а также способность прямо угнетать импульсную активность нейронов.

Литература (References)

1. Вислобоков А.И., Игнатов Ю.Д., Галенко-Ярошевский П.А., Шабанов П.Д. Мембранотропное действие фармакологических средств. – Санкт-Петербург–Краснодар: Просвещение-Юг, 2010. – 528 с. [Vislobokov A.I., Ignatov Y.D., Galenko-Yaroshevskii P.A., Shabanov P.D. *Membranotropnoe dejstvie farmakologicheskikh sredstv*. Membranotropic action of pharmacological drugs. – Saint-Petersburg–Krasnodar: Prosveshcheniye-Yug, 2010. – 528 p. (in Russian)]
2. Вислобоков А.И., Шабанов П.Д. Клеточные и молекулярные механизмы действия лекарств. – Серия: Цитофармакология. Т.2. – СПб: Информ-Навигатор, 2014. – 624 с. [Vislobokov A.I. Shabanov P.D. *Kletochnye i molekulyarnye mehanizmy dejstviya lekarstv*. Cellular and molecular mechanisms of drug action. Ser.: Cytopharmacology. V.2. Saint-Petersburg: Inform-Navigator, 2014. – 624 p. (in Russian)]
3. Карпова И.В., Михеев В.В., Марышева В.В. и др. Влияние острой гипоксии с гиперкапнией на содержание моноаминов в симметричных структурах головного мозга самцов мышей линии Balb/c // Биомедицинская химия. – 2014. – Т.60, №2. – С. 258-263. [Karpova I.V., Mikheev V.V., Marysheva V.V. i dr. *Biomeditsinskaya khimiya*. Biomedical chemistry. – 2014. – V.60, N2. – P. 258-263. (in Russian)]
4. Костяновский Р.Г., Шустов Г.В. Набиев О.Г. и др. Синтез и психотропная активность функционально замещенных диазиридинов и бисдиазиридинов // Химико-фармацевтический журнал. – 1986. – Т.20, №6. – С. 671-674. [Kostyanovskii R.G., Shustov G.V., Nabiyeu O.G. et al. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. Chemistry-Pharmacy Journal. – 1986. – V.20, N6. – P. 671-674. (in Russian)]
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с. [Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaja. Pod red. A.N. Mironova. Guide for preclinical study of drugs. Part I. Ed by A.N. Mironov. – Moscow: Grif and Co, 2012. – 944 p. (in Russian)]
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. В.П. Фисенко. – М.: МЗ РФ, 2000. – С. 126-130. [Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novykh farmakologicheskikh veshhestv. Pod red. V.P. Fisenko. Guide for

- experimental (pre-clinical) study of new pharmacological substances. Ed by V.P. Fisenko. – Moscow: Ministry of Health, 2012. – 944 p. (in Russian)]
7. Шабанов П.Д. Психофармакология. – СПб: Н-Л, 2008. – 362 с. [P.D. Shabanov. *Psichofarmakologija*. Psychopharmacology. – Saint-Petersburg: N-L, 2008. – 362 p. (in Russian)]
 8. Шабанов П.Д. Наркология. Изд. 2-е испр. и доп. – М.: Гэотар-Медиа, 2012. 832 с. [Shabanov P.D. *Narkologija. Izd. 2-e*. Narcology. 2nd ed, rev and add. Moscow: Geotar-Media, 2012. – 832 p. (in Russian)].
 9. Шабанов П.Д., Морозов А.И., Бычков Е.Р. и др. Фармакология нового анксиолитика, производного диазиридина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т.13, Спецвыпуск. – С. 191. [Shabanov P.D., Morozov A.I., Bychkov E.R. i dr. *Obzory po klinicheskoi farmacologii I lekarstvennoi terapii*. Reviews on clinical pharmacology and drug therapy. – 2015. – V.13 (suppl.). – P. 191. (in Russian)]
 10. Шабанов П.Д., Морозов А.И., Бычков Е.Р. и др. Фармакология нового атипичного нейролептика диазлептина, производного диазиридина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т.13, Спецвыпуск. – С. 191-192. [Shabanov P.D., Morozov A.I., Bychkov E.R. i dr. *Obzory po klinicheskoi farmacologii I lekarstvennoi terapii*. – 2015. – V.13 (suppl.). – P. 191-192. (in Russian)]
 11. Шабанов П.Д., Морозов А.И., Лебедев А.А., Бычков Е.Р. Фармакология траквиридина, нового анксиолитика, производного 1,2-диазацклопропана // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т.13, №4. – С. 22-28. [Shabanov P.D., Morozov A.I., Lebedev A.A., Bychkov E.R.. Pharmacology of tranquiridine, a new anxiolytic, a diaziridine derivative. *Obzory po klinicheskoi farmacologii I lekarstvennoi terapii*. Reviews on clinical pharmacology and drug therapy. – 2015. – V.13, N4. – P. 22-28. (in Russian)]
 12. Шабанов П.Д., Морозов А.И., Лебедев А.А. и др. Экспериментальное исследование нового анксиолитика транквиридина // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т.15, №2. – С.3-14. [Shabanov P.D., Morozov A.I., Lebedev A.A. i dr. *Vestnik Smolenskoi gosudarstvennoi akademii*. Bulletin of the Smolensk state medical Academy. – 2016. – V.15, N2. – P. 3-14. (in Russian)]
 13. Camerino D.C., Tricarico D., Desaphy J.F. Ion channel pharmacology // *Neurotherapeutics*. – 2007. – V.4, N2. – P. 184-198.
 14. Makhova N.N., Petukhova V.Y., Shevtsov A.V. et al. Agents for treating neurodegenerative disorders // WIPO PCT WO 2013/111118 A2 from 01.08.2013. – P. 1-51.
 15. Narahashi T. Neuroreceptors and ion channels as the basis for drug action: past, present, and future // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*. – 2000. – V.294, N1. – P. 1-26.
 16. Paget C.J., Davis C.S. Synthesis and in vitro activity of some aryl diaziridines as potential monoamine oxidase inhibitors // *Aryl Diaziridines and MAO*. Ed. by M.E. Freed, E. Hertz, L.M. Rice. – New York; London: Plenum press, 1964. – V.7. – P. 626-628.
 17. Shevtsov A.V., Petukhova V.Y., Novakovskiy V.V., Makhova N.N. Diaziridine derivatives for treating mental disorders // WIPO PCT WO 2012/042502 A1 from 05/04/2012. – P. 1-43.

Информация об авторах

Шабанов Петр Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова Министерства обороны России. E-mail: pdshabanov@mail.ru

Морозов Андрей Иванович – аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: pdshabanov@mail.ru

Лебедев Андрей Андреевич – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: aalebedev-iem@yandex.ru

Бычков Евгений Рудольфович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». E-mail: bychkov@mail.ru