

УДК 615.214.32; 615.076.9

Исламова Э.Э., Смирнов И.А., Никитина Е.А., Желнина А.Д., Казачков М.М.

**АНТИДЕПРЕССИВНЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ДИГИДРОТИАЗОЛОКСАНТИНОВ И ПРОГНОЗ ПАРАМЕТРОВ ИХ ОСТРОЙ
ТОКСИЧНОСТИ *in silico***

Научный руководитель – д.м.н., профессор И.Л. Никитина
Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

В статье представлены результаты скрининга антидепрессивной активности и прогноза острой токсичности *in silico* новых производных дигидротиазолоксантинов. Эксперимент выполнен на неинбредных мышах-самцах, которые получали вещества однократно внутрибрюшинно в дозах, эквимоларных препарату сравнения – амитриптилину (10 мг/кг). Было показано, что изученные дигидротиазолоксантины не обладают антидепрессивными свойствами, но в разной степени изменяют структуру поведения мышей и относятся к малоопасным веществам. Соединение D_{III} значительно увеличивало ориентировочно-исследовательскую активность мышей, а D_{II} и D_{IV} – количество выскакиваний.

Ключевые слова: антидепрессивная активность, дигидротиазолоксантины, LD50, мыши

Islamova E.E., Smirnov I.A., Nikitina E.A., Zhelnina A.D., Kazachkov M.M.

**ANTIDEPRESSANT PROPERTIES OF NEW DIHYDROTHIAZOLOXANTHINE
DERIVATIVES AND PREDICTION OF THEIR ACUTE
TOXICITY PARAMETERS *in silico***

Scientific adviser – Full professor I.L. Nikitina

Bashkir State Medical University, Ufa

The article presents the results of screening for antidepressant activity and prediction of acute toxicity *in silico* of new dihydrothiazoloxanthine derivatives. The experiment was performed on outbred male mice that received substances once intraperitoneally in doses equimolar to the comparison drug amitriptyline (10 mg/kg). The study shows that the studied dihydrothiazoloxanthines do not have antidepressant properties, but they change the structure of mouse behavior to varying degrees and belong to low-risk substances. Compound D_{III} significantly increased the tentative research activity of mice, and D_{II} and D_{IV} significantly increased the number of pops.

Keywords: antidepressant activity, dihydrothiazoloxanthine, LD50, mice

По данным 2021 г., в странах Европейского союза от большого депрессивного расстройства (БДР) страдает 4–10% населения. Помимо выраженного ухудшения качества жизни пациентов с БДР, доказана коморбидность БДР с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, метаболическими расстройствами и раком, а также снижение комплаентности терапии. В то же время 10–30% больных страдают от резистентной к терапии депрессии, не поддающейся лечению двумя антидепрессантами с различными механизмами действия, что обосновывает актуальность вопроса разработки нового препарата для лечения БДР [8,9]. В предыдущих работах в БГМУ было показано, что производные ксантинов обладают антидепрессивными свойствами и являются перспективным классом для создания нового психотропного средства [2]. Данная работа является продолжением цикла этих исследований.

Цель работы

Скрининг антидепрессивной активности новых производных дигидротиазолоксантинов в скрининговых поведенческих тестах и прогностическая оценка параметров их острой токсичности с помощью GUSAR ONLINE.

Материал и методы исследования

Для скрининга антидепрессивной активности были отобраны белые неинбредные мыши самцы ($m=18-23$ г), которые находились в виварии со стандартизированным световым и температурным режимами и имели неограниченный доступ к полнорационному комбикорму и питьевой воде. Проведенное исследование отвечает всем требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных [4]. В случайном порядке были сформированы 7 экспериментальных групп: 1 – контроль; 2 – препарат сравнения – амитриптилин (10 мг/кг); 3-7 – исследуемые вещества (D_I – 13,1 мг/кг; D_{II} – 20,01 мг/кг; D_{III} – 20,23 мг/кг; D_{IV} – 18,78 мг/кг; D_V – 19,81 мг/кг); все вещества синтезированы на кафедре фармацевтической химии БГМУ (зав. д.ф.н. Клен Е.Э.). Животные получали соединения (в дозах, эквимолярных 10 мг/кг амитриптилина) внутривентрально (в/б) однократно за 0,5 ч до начала поведенческих тестов. Для оценки антидепрессивной активности новых производных ксантинов использовали тесте «принудительное плавание» (ТПП) в модификации Е.В. Щетинина [6]. С помощью ТПП моделировали «подавленное состояние» и оценивали длительность иммобилизации (ДИМ) мышей в с.; для углубленного анализа структуры плавания рассчитывали высокочувствительный хронобиологический показатель – индекс депрессии (ИД), который представляет собой отношение количества коротких периодов неподвижности (менее 6 секунд) к количеству периодов активного плавания. В целях дополнительного изучения поведения животных в стрессогенных условиях и исключения ложноотрицательных / положительных результатов применяли тест «открытое поле» (ТОП), где регистрировали 8 поведенческих паттернов, включая горизонтальную локомоторную активность, а так же рассчитывали суммарные показатели: ориентировочно-исследовательская активность (ОИА = норка + обнюхивание + перемещение) и эмоциональная тревожность (ЭТ = стойка с упором + стойка + движение на месте) [3]. Поведение животных во всех тестах фиксировалось на видеокамеру (Panasonic V760), а затем обрабатывалось в программе «Brain test». Для статистической обработки данных определяли тип распределения (во всех случаях имело характер ненормального распределения), вариационные ряды описывали с помощью медианы (Me), межквартильного интервала и среднеквадратичного отклонения; для межгрупповых сравнений применяли критерии Краскела-Уоллиса (H-критерий) и МаннаУитни (U-критерий) в программе «Statistica 13.3» («TIBCO Software Inc.», США) [5].

Для прогноза параметров острой токсичности *in silico* применяли методы

компьютерного моделирования, реализованный на *online*-сервисе GUSAR (системы Pass, основанной на моделях QSAR) [9]. С помощью модели «структура – острая токсичность» оценивали токсичность при 4 основных способах введения для крыс, в том числе в/б, внутривенном (в/в) и пероральном (п/о). Класс токсичности определялся в соответствии с классификацией, разработанной Организацией экономического сотрудничества и развития [1,10].

Результаты и обсуждения

В ТПП при однократном в/б введении amitriptyline значительно снижал ИД ТПП на 26% ($p=0,04$), время активного плавания на 65% ($p=0,004$) и повышал ДИМ на 131% ($p=0,032$) по сравнению с контролем. Весь ряд изучаемых ксантинов не влиял на ИД ТПП. Однако все соединения изменяли структуру плавания мышей: при введении мышам ДИМ ТПП повышалась на 35–131%, на фоне чего сокращалось время активного плавания на 19–51% по сравнению с контролем ($p > 0,05$ для всех пар сравнений). При этом соединения D_{II}, D_{IV} увеличивали количество выскакиваний ($p < 0,05$). При изучении поведения животных в ТОП соединение D_{III} статистически значимо увеличивало ОИА на 15% ($p=0,003$) относительно контроля за счет паттерна норка, при этом на перемещение вещество не влияло, но отмечалось усиление ЭТ на 34% ($p > 0,05$). D_{IV} и D_V продемонстрировали тенденцию к уменьшению горизонтальной двигательной активности животных на 45% и 31% соответственно ($p > 0,05$) [Таблица 1].

Прогноз острой токсичности *in silico* показал, что изучаемый ряд ксантинов относится к малотоксичным веществам. При в/б и в/в введениях соединения D_I-D_{III} и D_V были отнесены к V классу токсичности (LD₅₀ при в/б введении 568,9–823,0 мг/кг; LD₅₀ при в/в введении 404,2–496,6 мг/кг). Вещество D_{IV} при аналогичных путях введения входит в группу IV класса опасности (LD₅₀ при в/б введении 461,3 мг/кг; LD₅₀ при в/в введении 225,9 мг/кг). При п/о пути введения весь ряд дигидротиазолоксантинов отнесен к IV классу токсичности (LD₅₀ = 635,3–1270,0 мг/кг) [Таблица 2].

Таблица 1

Влияние новых дигидротиазолоксантинов на показатели ТПП и ТОП при однократном в/б введении мышам

Группа	ТПП, ДИМ	ТПП, ИД	Перемещение, ТОП	ОИА, ТОП	ЭТ, ТОП
Контроль	74,0 (58,0-158,0) n=7	0,92 (0,69-0,99) n=6	63,5 (57,0-65,0) n=6	92,0 (60,0-96,0) n=7	71,0 (42,0-98,0) n=7
Амитриптилин	171,0* (167,0-185,0) n=6	0,68* (0,58-0,75) n=6	28,0 (27,0-58,0) n=7	64,0 (59,0-105,0) n=7	42,0 (32,0-63,0) n=7

DI	143,0 (64,0-185,0) n=7	0,80 (0,75-0,92) n=6	64,0 (31,0-97,0) n=7	106,0 (53,0-126,0) n=7	81,0 (41,0-94,0) n=7
DII	100,0 (79,0-128,0) n=6	0,90 (0,85-0,98) n=6	63,0 (51,0-97,0) n=5	97,0 (94,0-130,0) n=4	71,0 (70,0-89,0) n=3
DIII	145,0 (133,0-170,0) n=6	0,88 (0,85-0,91) n=6	72,0 (59,0-83,0) n=7	106,0* (104,0-125,0) n=6	95,0 (85,0-105,0) n=6
DIV	158,0 (121,0-190,0) n=6	0,87 (0,68-1,00) n=7	35,0 (30,0-69,0) n=6	86,0 (71,0-87,0) n=5	62,5 (47,0-87,0) n=6
DV	150,0 (96,0-195,0) n=6	0,78 (0,69-0,85) n=6	43,5 (29,0-70,0) n=6	70,0 (46,0-98,0) n=6	79,5 (56-88) n=6

Примечание: в таблице представлена медиана, межквартильный интервал и количество животных в группе

* $p < 0,05$ для U-критерия Манна-Уитни по сравнению с контрольной группой

Таблица 2

Прогноз острой токсичности дигидротиазолоксантинов для крыс в системе Gusar Online

Соединение	Пути введения			
	Внутрибрюшинный, LD50 (мг/кг)	Внутривенный, LD50 (мг/кг)	Пероральный, LD50 (мг/кг)	Подкожный, LD50 (мг/кг)
DI	627,8	404,2	635,3	1878,0
DII	823,0	496,6	679,6	1142,0
DIII	568,9	483,3	1270,0	449,2
DIV	461,3	225,9	722,2	1164,0
DV	649,4	410,9	1080,0	683,4

Заключение и выводы

Изученный ряд дигидротиазолоксантинов при однократном в/б введении относится к малоопасным веществам; молекулы не проявляют антидепрессивной активности, но в разной степени изменяют структуру поведения мышей. Соединение D_{III} значительно увеличивало ориентировочно-исследовательскую активность мышей в ТОП (преимущественно за счет паттерна «норка»), а D_{II} и D_{IV} – количество выскакиваний в ТПП.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Авдеева О. [и др.]. Гармонизация исследований по проведению острой токсичности в соответствии с российскими и зарубежными требованиями // Международный вестник ветеринарии. 2015. № 1. С. 103–109.

2. Валеева Л. А. [и др.]. Перспективный Антидепрессант Среди Производных Ксантина // Медицинский Вестник Башкортостана. 2018. № 3 (75) (13).
3. Вальдман А., Пошивалов В. Фармакологическая регуляция внутривидового поведения // Медицина. 1984. (208).
4. Статья 31 Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS N 123 (Страсбург, 18 марта 1986 г.) | ГАРАНТ.
5. Хафизьянова Р. Х., Бурыкин И. М., Алеева Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии / Р. Х. Хафизьянова, И. М. Бурыкин, Г. Н. Алеева, Медицина,.
6. Щетинин Е. В. и др. Биоритмологический подход к оценке принудительного плавания как экспериментальной модели "депрессивного" состояния //Журнал высшей нервной деятельности им. ИП Павлова. – 1989. – Т. 39. – №. 5. – С. 958-964.
7. Gold S. M. [и др.]. Comorbid depression in medical diseases // Nature Reviews Disease Primers. 2020. № 1 (6). С. 1–22.
8. Heerlein K. [и др.]. Real-world evidence from a European cohort study of patients with treatment resistant depression: Treatment patterns and clinical outcomes // Journal of Affective Disorders. 2021. (290). С. 334–344.
9. Sukhachev V. [и др.]. Alternative Methods of Studies. Computer-Aided Estimation of Rodents Acute Toxicity // Laboratornye Zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy (Laboratory Animals for Science). 2019. № 4 (2).
10. Test No. 436: Acute Inhalation Toxicity – Acute Toxic Class Method | en | OECD.

Сведения об авторах статьи:

1. **Исламова Элеонора Эмилевна** – студентка 4 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: islamowa.eleonora@gmail.com
2. **Смирнов Илья Александрович** – студент 4 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: dragonklerk@gmail.com
3. **Никитина Екатерина Андреевна** – студентка 6 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: katnixand@gmail.com
4. **Желнина Александра Дмитриевна** – студентка 3 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: zhelnina02@inbox.ru
5. **Казачков Матвей Михайлович** – студент 3 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина 3. e-mail: cazachkovm@yandex.ru