

УДК 57.021:612.084:615.214.22

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ 1,5-БЕНЗОДИАЗЕПИНОНА-2 И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ**Епишкин И.В., Коренюк И.И., Гамма Т.В.***Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского,
Симферополь, e-mail: igor.epishkin2013@yandex.ua*

В серии стресс-тестов исследованы особенности поведенческих реакций крыс при действии 1,5-бензодиазепинона-2 и его производных в дозах 5, 25, 50 и 100 мг/кг. В результате сравнения этих показателей с таковыми эталонного препарата диазепама (5 мг/кг), выявлено, что под влиянием 1,5-бензодиазепинона-2 и его трех производных (4-метил-1,5-бензодиазепинона-2, 3-метил-1,5-бензодиазепинона-2, 5-формил-3-метил-1,5-бензодиазепинона-2) поведение крыс в зависимости от уровня аверсивности теста существенно изменяется. В целом установлено, что тестируемые вещества в зависимости от дозы способны проявлять психотропные (антистрессорные, анксиолитические, седативные, антидепрессантные) свойства.

Ключевые слова: бензодиазепин, стресс, крысы**FEATURES BEHAVIORAL RATS UNDER THE INFLUENCE 1,5-BENZODIAZEPINONE-2 AND ITS DERIVATIVES****Epishkin I.V., Korenyuk I.I., Gamma T.V.***Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, e-mail: igor.epishkin2013@yandex.ua*

In a series of stress tests examined behavioral characteristics of rats under the influence of 1,5-benzodiazepinone-2 and its derivatives in doses of 5, 25, 50 and 100 mg/kg. As a result, comparison of the test substances with those of the reference drug diazepam (5 mg/kg) showed that under the influence of 1,5-benzodiazepinone-2 and its three derivatives (4-methyl-1,5-benzodiazepinone-2, 3-methyl-1,5-benzodiazepinone-2, 5-formyl-3-methyl-1,5-benzodiazepinone-2), the behavior of rats, depending on the level of aversive test changes significantly. In general, found that the test substance in a dose can be psychotropic (antistress, anxiolytic, sedative, anti-depressant) properties.

Keywords: benzodiazepine, stress, rats

Известно, что химические соединения с предполагаемыми терапевтическими свойствами обязательно проходят этап их физиологического изучения на животных с целью определения общих свойств и механизма действия [3]. К таким веществам можно отнести производные 1,5-бензодиазепинона-2, которые недавно были получены в результате целенаправленного синтеза [1] и естественно, существует потребность в изучении их биологической активности. Так как 1,5-бензодиазепинон-2 и его новые производные являются структурными гомологами 1,4-бензодиазепина, то естественно, следует ожидать, что они могут обладать психотропными свойствами.

Целью настоящей работы было выяснение наличия, направленности и выраженности психотропных свойств 1,5-бензодиазепинона-2 и его новых производных, и сопоставить их эффекты с таковыми терапевтической дозы диазепама.

Материалы и методы исследования

Исследование психотропных эффектов 1,5-бензодиазепинона-2 (БД1) и его трех производных (4-метил-1,5-бензодиазепинона-2 (БД2), 3-метил-1,5-бензодиазепинона-2 (БД3) и 5-формил-3-метил-1,5-бензодиазепинона-2 (БД4) было проведено на 60 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г,

которые были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой. За 30 мин до тестирования одной группе вводили физиологический раствор (контроль), другой – диазепам (препарат сравнения) в дозе 5 мг/кг и четырем – тестируемые вещества в одной из следующих доз 5, 25, 50 и 100 мг/кг, которые растворяли в физиологическом растворе и вводили внутривенно. Объем вводимого раствора составлял 0,2 мл.

Изучение психотропной активности проводили в экспериментальных тестах-моделях: «открытое поле» [6], «черно-белая камера» [5], «подвешивание за хвост» [8] и тест Порсолта [10].

Полученные результаты сравнивались с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Для наглядного предоставления результатов использовали условные единицы (%).

При выполнении экспериментов соблюдали нормы и принципы, утверждённые Постановлением первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001) и Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» от 21.02.2006, с изменениями от 15.12.2009.

Проведение исследований одобрено и комитетом по биоэтике ТНУ им. В.И. Вернадского (протокол № 3 от 20.09.2012 г.).

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты теста «открытое поле». Диазепам в дозе 5 мг/кг по сравнению с контролем увеличивал (на 130,1%) уровень исследовательской активности (ИА), что указывает на снижение тревожности, и расценивается [6] как проявление анкси-

олитических свойств, а показатели горизонтальная двигательная активность (ГДА), вертикальная двигательная активность (ВДА), груминг (Гр) и дефекация (Деф), на-

оборот, угнетал на 55,0; 91,2; 58,9 и 56,2% соответственно, что согласно [3] указывает на проявление седативных свойств (на рис. 1 показатели ВДА и Гр не отражены).

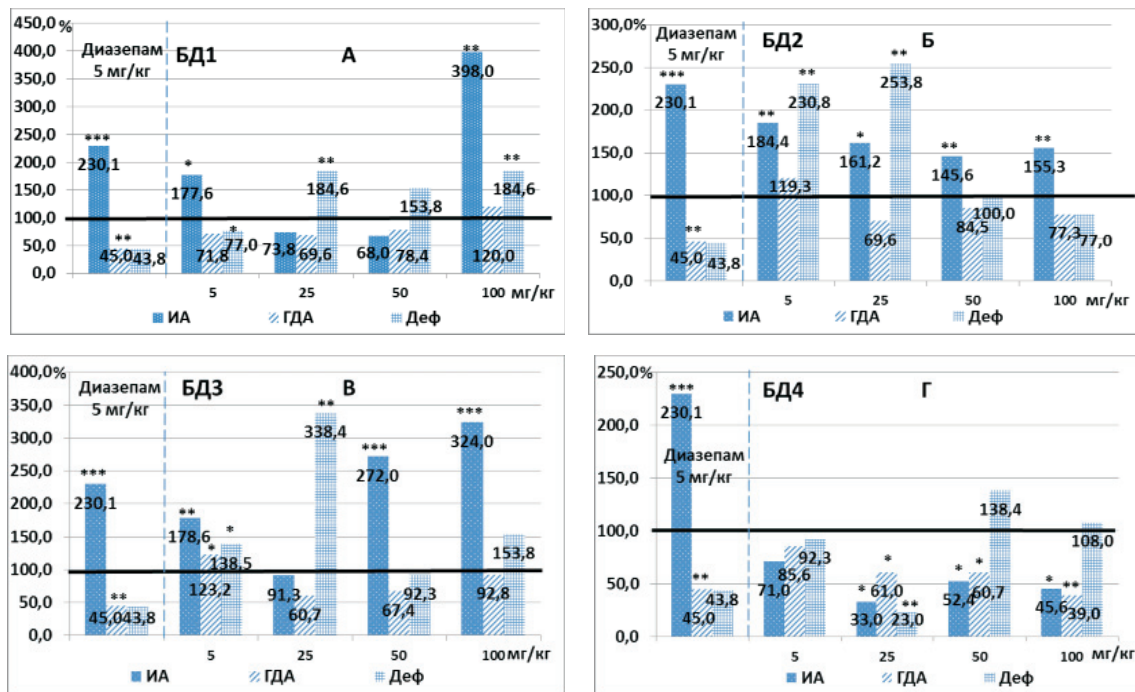


Рис. 1. Влияние 1,5-бензодиазепинона-2и его трех производных (в указанных под гистограммами дозах (мг/кг)) на поведение крыс в тесте «открытое поле».

Примечание: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$, где p – уровень достоверности по отношению к контролю, обозначенный жирной линией (100%). ИА – исследовательская активность, ГДА – горизонтальная двигательная активность, Деф – дефекация

После введения крысам БД1 в дозах 5 и 100 мг/кг наблюдалось увеличение уровня ИА на 77,6 и 298,0% соответственно по сравнению с контролем. При этом, в дозе 100 мг/кг уровень ИА превосходил таковой при действии диазепама в 1,7 раза (см. рис. 1, а). Из рис. 1, а также видно, что в дозе 100 мг/кг БД1 увеличивал по отношению к контролю ГДА на 20,0%, что свидетельствует о проявлении антистрессорного действия, а в дозах 25 и 50 мг/кг наблюдалось увеличение количества Деф на 84,6 и 53,8% соответственно, что согласно [2], расценивается как развитие стресса. Кроме того следует отметить, что БД1 и его производные в этом тесте подавляли ВДА и Гр во всех исследованных дозах (на рис. 1 они не показаны).

БД2 во всех исследованных дозах по сравнению с контролем увеличивал уровень ИА, который не превосходил таковой при действии диазепама (рис. 1, б). Показатель ГДА в дозе 5 мг/кг по сравнению с контролем увеличивался, что указывает

на проявление антистрессорного действия вещества, а при дозах 25, 50 и 100 мг/кг, наоборот, снижался, что указывает на его седативное действие на поведение крыс. Следует отметить, что БД2 в дозах 5 и 25 мг/кг увеличивал в 2,3 и 2,5 раза уровень Деф (рис. 1, б), что согласно [2] свидетельствует о повышении уровня эмоциональности крыс.

БД3 в дозах 5, 50 и 100 мг/кг по сравнению с контролем увеличивал уровень ИА (на 78,6; 172,0 и 224% соответственно), при этом в дозах 50 и 100 мг/кг превосходил таковой при действии диазепама (см. рис. 1, в). Показатель ГДА при действии БД3 в дозе 5 мг/кг увеличивался, что указывает на проявление антистрессорного действия данного вещества, а в дозах 25, 50 и 100 мг/кг, наоборот, снижался, что указывает на его седативное действие. Показатели Деф в дозах 5, 25 и 100 мг/кг были выше контроля на 38,5; 238,4 и 53,8% соответственно, что свидетельствует о развитии стресса [2].

Выявлено, что БД4 во всех исследованных дозах угнетал показатели ИА и ГДА (см. рис. 1, г), а показатель Деф в дозах 50 и 100 мг/кг, наоборот, увеличивался [2, 3, 6], что указывает на развитие стресса. Эти данные свидетельствуют о выраженном анксиогенном действии вещества.

Таким образом, БД1 (в дозах 5 и 100 мг/кг), БД2 (в дозах 5, 50 и 100 мг/кг) и БД3 (в дозах 5, 50 и 100 мг/кг) проявляют анксиолитические свойства, а БД4 (во всех исследованных дозах) – анксиогенное. Все тестируемые вещества в зависимости от дозы проявляли седативные свойства, однако БД1 (в дозе 100 мг/кг), БД2 и БД3 (в дозе 5 мг/кг) обладали антистрессорным действием.

Результаты теста «черно-белая камера». Диазепам (5 мг/кг) в этом тесте сни-

жал как число выглядываний, так и время выходов в светлый отсек, что указывает на увеличение тревожности [5], и, следовательно, диазепам не проявляет анксиолитические свойства (рис. 2). По-видимому, тест «черно-белая камера» не является «работающей» моделью для проявления анксиолитических эффектов диазепама в этой дозе.

БД1 в дозах 5 и 100 мг/кг увеличивал число выглядываний (по сравнению с контролем на 183 и 46,3 % соответственно), однако в дозах 25 и 50 мг/кг достоверных изменений этого показателя не выявлено (рис. 2, а). Поскольку рост количества выглядываний указывает на увеличение ИА [5], то из наших данных следует, что БД1 в дозах 5 и 100 мг/кг способен проявлять анксиолитические свойства.

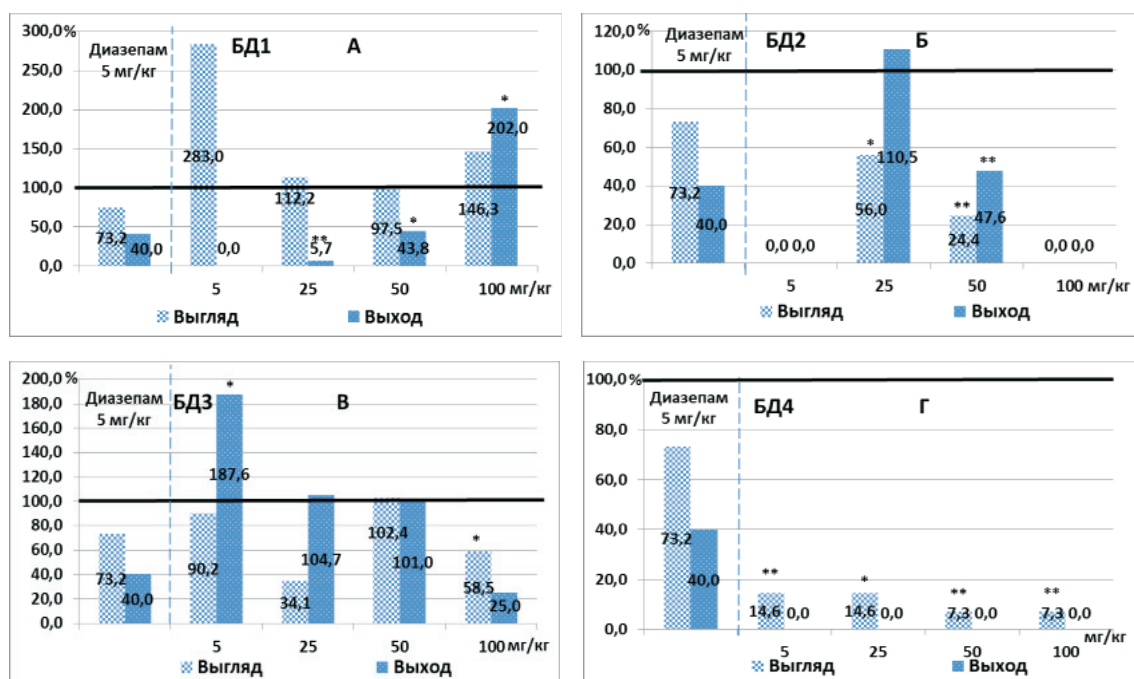


Рис. 2. Влияние 1,5-бензодиазепинон-2и его производных (в указанных под гистограммами дозах (мг/кг)) на поведение крыс в тесте «черно-белая камера». Примечания, как на рис. 1.

Выгляд – число выглядываний, выход – время выходов

Относительно контроля БД2в дозах 5 и 100 мг/кг полностью подавлял как выглядывания, так и выходы крыс в светлый отсек камеры, а в дозах 25 и 50 мг/кг достоверно снижал число выглядываний (рис. 2, б), что ясно указывает на наличие у него выраженных анксиогенных свойств [5].

Результаты теста ЧБК показали, что БД3в дозах 5, 25 и 100 мг/кг снижал число выглядываний, а дозе 50 мг/кг этот показатель был на уровне контроля. При этом в дозе 5 мг/кг количество выходов увеличилось на 87,5%, а в 100 мг/кг – наоборот

снижалось на 75%. В дозах 25 и 50 мг/кг по отношению к контролю количество выходов изменялось недостоверно (рис. 2, в). Очевидно, действительно в малых дозах транквилизаторы могут оказывать растормаживающее действие, проявляющееся повышением психомоторной активности, что связано с развитием феномена «торможение-торможения», формирующимся на первом этапе действия БД [4]. В высокой дозе, транквилизирующий эффект реализуется за счет перенасыщения специфических рецепторов молекулами БД, что приводит к блокированию актив-

ности центральных тормозных нейронов и активности возбуждающих. В тоже время отсутствие таковых эффектов в дозах 25 и 50 мг/кг, вероятно связано со снижением бензодиазепиновой рецепции с инактивацией ГАМК-рецептора при стрессе, то есть уменьшения входа СГ в клетку [7].

Эффекты БД4 во всех исследованных дозах заключались в полном подавлении выходов крыс в светлый отсек и значительным снижением выглядываний по сравнению с контролем (рис. 2, г). Все это согласно [5] свидетельствует о выраженном анксиогенном действии этого вещества.

Таким образом, анализ результатов теста ЧБК показал, что БД1 и БД3 дозозави-

симо могут проявлять анксиолитические свойства, а эффекты БД2 и БД4 – анксиогенные.

Результаты теста «подвешивание за хвост». Диазепам (5 мг/кг) в условиях данного теста увеличивал (до 409,5%; $p = 0,001$) латентный период им мобильности (ЛПИ; на рис. 3 не показано), что указывает на развитие депрессии у крыс [8], то есть он усиливает депрессию. После введения тестируемых веществ было обнаружено (см. рис. 3), что только БД4 и лишь в дозе 100 мг/кг снижал ЛПИ, а эффекты БД1, БД2 и БД3 практически во всех исследованных дозах были направлены на усиление депрессии.

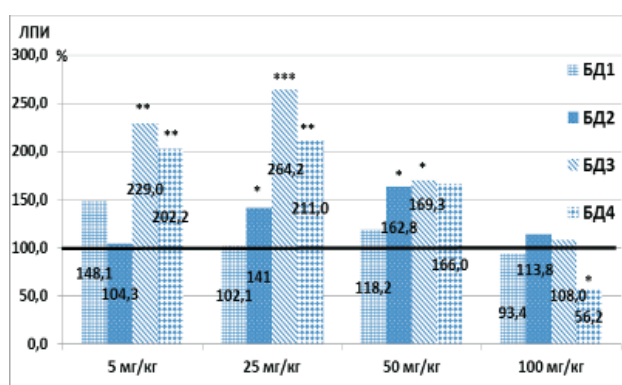


Рис. 3. Влияние 1,5-бензодиазепинона-2 и его трех производных (в указанных под гистограммой дозах (мг/кг)) на изменение латентного периода иммобильности в тесте «подвешивание за хвост». Примечания, как на рис. 1. ЛПИ – латентный период иммобильности

Результаты теста Порсолта. Из рис. 4 видно, что диазепам (в дозе 5 мг/кг) в этом тесте снижал основной маркер депрессии – время активного плавания (ВАП), что согласно [10] указывает на развитие депрессии. Таким образом, по результатам данного теста диазепам в дозе 5 мг/кг не обладает антидепрессантными свойствами, а наоборот, приводит к усилению моделируемой депрессии.

Из рис. 4, а, б и в также видно, что БД1, БД2 и БД3 во всех исследованных дозах снижали ВАП по сравнению с контролем, то есть приводили к развитию депрессии, а БД4 в дозах 5 и 25 мг/кг увеличивал (на 87,3 и 15,2% соответственно) ВАП крыс (рис. 4, г), что свидетельствует о проявлении антидепрессантных свойств [10].

В целом, из выше изложенного следует, что в зависимости от дозы под влиянием тестируемых веществ поведение крыс в разных моделях стресса может существенно изменяться. Так, в условиях слабого стресса (тест «открытое поле») анксиолитические свойства проявляются

у БД1, БД2 и БД3, а БД4 показал выраженный анксиогенный профиль. В условиях стресса среднего уровня (тест «черно-белая камера») БД1 и БД3 показали противотревожное действие, а в условиях сильного стресса (Порсолта и «подвешивание за хвост») БД1 и БД4 проявляли антидепрессантные свойства, а БД2 и БД3, наоборот, усиливали депрессию.

Результаты исследования показали, что тестируемые бензодиазепины обладают психотропной активностью, превосходящей в некоторых дозах эффекты диазепамов. Мы полагаем, что исследованные вещества можно рекомендовать для дальнейшего доклинического изучения и на основе результатов настоящих экспериментов могут быть разработаны пилотные клинические испытания этих агентов в качестве средств лекарственной коррекции здоровья, восстановления психического и функционального состояния людей, чей труд связан напряженными и стрессовыми факторами. В отношении механизма действия 1,5-бензодиа-

зепинона-2 можно думать, что он такой же, как и у других бензодиазепинов [9], которые в нейронах увеличивают поступление

Cl^- , выход K^+ и снижение поступления Na^+ и Ca^{2+} , обуславливая развитие торможения в центральной нервной системе.

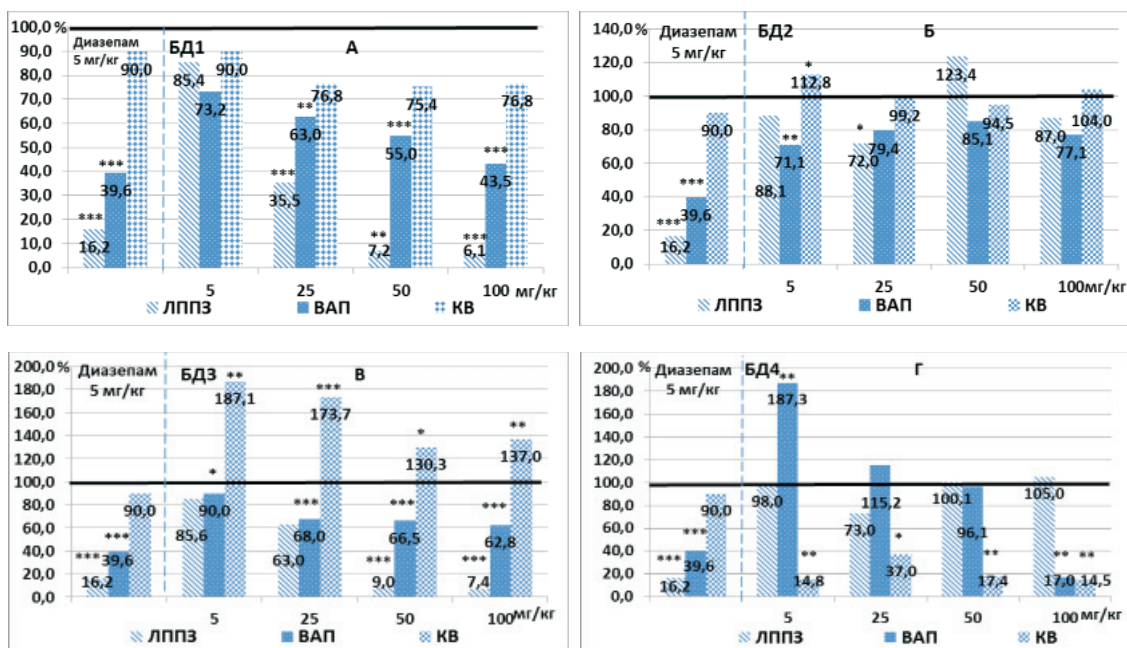


Рис. 4. Влияние 1,5-бензодиазепинона-2и его трех производных (в указанных под гистограммами дозах (мг/кг)) на поведение крыс в тесте Порсолта.

Примечания, как на рис. 1. ЛППЗ – латентный период первого зависания, ВАП – время активного плавания, КВ – количество выпрыгиваний

Выводы

1. Установлено, что 1,5-бензодиазепин-2 и его три новых производных в зависимости от дозы и мощности стресса способны проявлять психотропные (антистрессорные, анксиолитические, седативные, антидепрессантные) свойства, превосходящие действие эталонного препарата диазепам.

2. 1,5-бензодиазепин-2и его производные (4-метил-1,5-бензодиазепинона-2, 3-метил-1,5-бензодиазепинона-2 и 5-формил-3-метил-1,5-бензодиазепинона-2) могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения их биологических свойств.

Список литературы

1. Баевский А.М. Синтез и реакционная способность 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-1,5-бензодиазепин-2-она / А.М. Баевский, М.Ю. Баевский, И.М. Приходько // Ученые записки ТНУ им. В.И. Вернадского, «Биология, химия». – 2006. – Т19 (58), № 1. – С. 126–129.

2. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.

3. Калуев А.В. Груминг и стресс. – М.: Авикс, 2002. – 161 с.

4. Крыжановский Г.Н. Общая патофизиология нервной системы: Руководство. – М.: Медицина, 1997. – С. 352.

5. Лапин И.П. Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики // Экспер. клин. фармакол. – 2000. – Т. 63, № 3. – С. 58–62.

6. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля // Журн. высш. нервн. деят. – 1981. – Т. 31, № 2. – С. 301–307.

7. Яркова М.А. Фармакогенетический анализ феномена стрессиндуцированного падения бензодиазепиновой рецепции: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2012. – 48 с.

8. Greenshaw A.J. Animal model for assessing anxiolytic, neuroleptic and antidepressant drug action. In: Neuromethods / A.J. Greenshaw, T.V. Nguyen, D.J. Sanger // Analysis of Psychiatric Drugs. – 1988. – Vol. 10. – P. 379–427.

9. Haefely W.E. Central action of benzodiazepines: general introduction // British Journal of Psychiatry. – 1978. – № 133. – P. 231–238.

10. Porsolt R.D. Psychotropic screening procedures / R.D. Porsolt, R.A. McArthur, A. Lenegre // Methods in Behavioral Pharmacology. – New York: Elsevier, 1993. – P. 23–51.