

Исследование поведенческих эффектов новых фосфорилированных тиосемикарбазидов в эксперименте

© Никитина А. В.¹, Семина И. И.¹, Никитин Д. О.¹, Гаврилова Е. Л.²,
Бурангулова Р. Н.², Крутов И. А.², Исаева А. О.²

¹ — ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация

² — ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», Казань, Российская Федерация

Аннотация. Актуальность. Известно, что существующая лекарственная терапия когнитивных расстройств характеризуется невысокими показателями эффективности и безопасности, а также симптоматической направленностью. Поэтому изыскание новых лекарственных средств в данной сфере является актуальным вопросом, решением которого могут стать фосфорилированные производные тиосемикарбазидов (ФТК), обладающие мультитаргетным механизмом действия. **Цель.** Изучение острой токсичности и влияния на поведение мышей ФТК. **Методы.** Объекты исследования — 2 новых соединения ряда ФТК: 2-[2-(Дифенилфосфорил)ацетил]гидразинкарботиоамид (Т7) и 2-[2-(Дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразинкарботиоамид (Т8). Препарат сравнения — гидразид дифенилфосфорилуксусной кислоты (фосеназид). После определения острой токсичности при внутрибрюшинном однократном введении, влияние ФТК на поведение мышей изучено на моделях «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Тёмно-светлая камера» (ТСК) и «Поведенческое отчаяние» (ПО). Для статистического анализа применяли программу GraphPadPrism 8.0.1 с вычислением t-критерия Стьюдента. **Результаты.** Установлено, что новые ФТК обладают меньшей токсичностью по сравнению с фосеназидом. Поведенческое тестирование показало, что в/б введение Т8 способствовало увеличению исследовательской (6 и 12 мг/кг) и двигательной (12 мг/кг) активности на модели ОП, развитию анксиолитического эффекта в тестах ПКЛ (12 мг/кг) и ТСК (6 мг/кг), а в тесте ПО (12 мг/кг) — антидепрессивного действия. При в/б введении Т7 отмечалось увеличение двигательной активности в тесте ОП (16 мг/кг). **Вывод.** Соединения ряда ФТК являются перспективными для дальнейшего синтеза и разработки в качестве потенциальных лекарственных препаратов с различным спектром психотропной активности.

Ключевые слова: фосфорилированные тиосемикарбазиды; открытое поле; приподнятый крестообразный лабиринт; тёмно-светлая камера; психотропные свойства

Для цитирования:

Никитина А. В., Семина И. И., Никитин Д. О., Гаврилова Е. Л., Бурангулова Р. Н., Крутов И. А., Исаева А. О. Исследование поведенческих эффектов новых фосфорилированных тиосемикарбазидов в эксперименте. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(3):68–76. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-68-76>

Поступила: 07.08.2023. В доработанном виде: 15.08.2023. Принята к печати: 02.09.2023. Опубликовано: 30.09.2023.

Experimental investigation of the behavioral effects of new phosphorylated thiosemicarbazides

© Anastasiya V. Nikitina¹, Irina I. Semina¹, Dmitry O. Nikitin¹, Elena L. Gavrilova², Ramilya N. Burangulova², Ivan A. Krutov², Anastasia O. Isaeva²

¹ — FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

² — Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

Abstract. Relevance. It is known that the existing drug therapy for cognitive disorders is characterized by low rates of efficacy and safety, as well as symptomatic orientation. Therefore, the search for new drugs in this area is an urgent issue, the solution of which can be phosphorylated derivatives of thiosemicarbazides (PTC), which have a multitarget mechanism of action. **Aim.** Study of acute toxicity and behavioral effects of PTC in mice. **Methods.** The objects of study are 2 new compounds of the PTC series: 2-[2-(Diphenylphosphoryl)acetyl]hydrazinocarbothioamide (T7) and 2-[2-(Diphenylphosphoryl)acetyl]-N-phenylhydrazinocarbothioamide (T8). The reference drug is diphenylphosphorylacetic acid hydrazide (fosenaazid). After determining the acute toxicity with a single intraperitoneal injection, the effect of PTK on the behavior of mice was studied in the models "Open field" (OP), "Elevated plus maze" (EPM), "Dark-light chamber" (DLC) and "Behavioral despair" (BD). For statistical analysis, the GraphPadPrism 8.0.1 program was used with the calculation of Student's t-test. **Results.** It has been established that new PTC are less toxic than fosenaazid. Behavioral testing showed that i.m. administration of T8 in test "OP" contributed to an increase in exploratory (6 and 12 mg/kg) and motor (12 mg/kg) activity, the development of an anxiolytic effect in the tests "EPM" (12 mg/kg) and "DLC" (6 mg / kg), and in "BD" (12 mg / kg) antidepressant effect. With the intravenous administration of T7, an increase in motor activity in the "OP" (16 mg / kg) was noted. **Conclusion.** Compounds of a number of PTC are promising for further synthesis and development as potential drugs with a different spectrum of psychotropic activity.s.

Keywords: phosphorylated thiosemicarbazides; open field; elevated plus maze; dark-light chamber; psychotropic properties

For citations:

Nikitina AV, Semina II, Nikitin DO, Gavrilova EL, Burangulova RN, Krutov IA, Isaeva AO. Experimental investigation of the behavioral effects of new phosphorylated thiosemicarbazides. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(3):68–76. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-68-76>

Received: 07.08.2023. Revision received: 15.08.2023. Accepted: 02.09.2023. Published: 30.09.2023.

Введение / Introduction

Простота и вариативность синтеза, а также широкий спектр биологической активности производных гидразина, таких как тиосемикарбазиды (ТСК) привлекает внимание исследователей [1]. Известно, что ТСК способны оказывать противоопухолевое, антибактериальное, противовирусное и противогрибковое действие, а также имеют антиоксидантные и антиатеросклеротические эффекты [2–7]. Кроме того, некоторые их производные применяются в качестве антикоррозионных агентов в аналитической химии и промышленности [8, 9]. Подобное разнообразие активности обусловлено их высокой способностью к диффузии через полупроницаемую мембрану клеток, а наличие нескольких реакционных центров позволяет данным структурам образовывать комплексы с катионами металлов, играющих значимую роль в метаболических процессах [10].

Интересно влияние ТСК на центральную нервную систему (ЦНС). Известно, что соединения данного класса, особенно при внедрении в их структуру триазолсодержащего фрагмента, угнетают активность глутаматдекарбоксилазы — фермента, отвечающего за регуляцию баланса возбуждающих (глутамат) и тормозных (гамма-аминомасляная кислота — ГАМК) нейромедиаторов, а возникающее при этом усиление глутаматергической иннервации в головном мозге способствует активизации процессов обучаемости и антидепрессивному действию [10–12].

Аналогичный широкий спектр активности отмечается и в группе фосфорилированных ацетогидразидов (ФАГ). Благодаря четырёхкоординированному атому фосфора в составе фосфорильного фрагмента, ФАГ удерживают несколько фармакофоров, каждый из которых способен оказывать воздействие на разные звенья патологического процесса, что открывает перед исследователями неограниченные возможности в разработке лекарственных средств нового поколения [13, 14]. Это положение было подтверждено при исследовании и внедрении в клиническую практику гидразида дифенилфосфорилуксусной кислоты — препарата фосеназида (дифенизид, фосфабензид, гидифен), обладающего транквилизирующими, антиалкогольными, антидепрессивными и противоэпилептическими свойствами. Известно, что фосеназид не вызывает нарушений памяти, что выгодно отличает его от транквилизаторов бензодиазепинового ряда и позволяет позиционировать его как «дневной» транквилизатор, с выраженной вегетотропной активностью, а также противоэпилептическим действием [14, 15]. Кроме того, препарат снимает симптоматику алкогольной абстиненции и нивелирует влечение к алкоголю, не вызывает усиления наркотического действия этанола [13]. В ходе клинического применения фосеназида был обнаружен антидепрессивный эффект и положительное влияние на состояние сердечно-сосуди-

стой системы, что обусловлено антиоксидантными свойствами, а также способностью восстанавливать функциональную активность клеточных мембран, при отсутствии влияния на активность синаптической ацетилхолинэстеразы [13–15].

Результаты изучения химических и фармакологических свойств фосеназида и других производных этого ряда были ключевыми для проведения систематических исследований фармакологической активности в указанном классе соединений с целью направленного создания новых лекарственных препаратов [14]. Перспективным вариантом в изучении и изыскании новых лекарственных средств, обладающих психотропной активностью может стать модификация ТСК фосфорсодержащим фрагментом.

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение влияния фосфорилированных производных ТСК на когнитивные функции и поведенческие реакции лабораторных животных.

Материалы и методы / Materials and methods

Объектами исследования явились 2 синтезированных соединения ряда фосфорилированных ТСК. В качестве препарата сравнения использовали ближайший структурный аналог — гидразид дифенилфосфорилуксусной кислоты (Фосеназид) (рис. 1).

1) 2-[2-(Дифенилфосфорил)ацетил]гидразинкарботиоамид (шифр Т7);

2) 2-[(Дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразин-1-карботиоамид (шифр Т8).

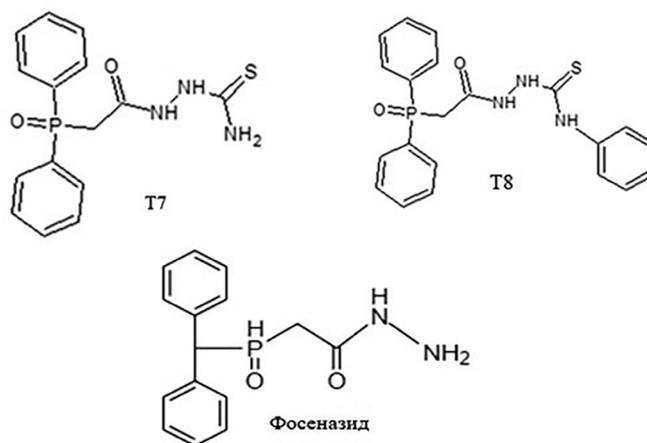


Рис. 1. Структурные формулы исследуемых соединений
Fig. 1. Structural formulas of the studied compounds

Эксперименты проведены на 230 белых беспородных мышах-самцах массой 18–24 г. До начала исследования все животные содержались в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением международных рекоменда-

ций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997), а также согласно «Правила надлежащей лабораторной практики», утверждённых приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016. Все исследования были одобрены комитетом по этической экспертизе Казанского государственного медицинского университета Минздрава России (протокол № 10 от 19.12.2017).

Для оценки острой токсичности свежеприготовленные растворы Т7 и Т8 с эмульгатором Твин-80 в соответствующей дозе были введены путём внутривенных (в/в) инъекций 6 белым мышам-самцам, после чего определена максимально-толерантная, абсолютно-смертельная (LD_{100}) и средняя смертельная дозы (LD_{50}). Полученные экспериментальные данные были обработаны методом «накопления частот» по Беренсу, LD_{50} определяли графически, а её ошибку — по формуле Гэддама [16].

После определения острой токсичности проводили поведенческое тестирование на установках «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Тёмно-светлая камера» и «Поведенческое отчаяние», выбор которых проводился согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [16].

На данном этапе введение исследуемых соединений и препарата сравнения осуществляли путём в/в инъекций свежеприготовленных растворов с эмульгатором Твин-80 за 30 минут до начала тестирования в дозах, составляющих 1/100 и 1/50 от LD_{50} : Т7 (8 мг/кг и 16 мг/кг), Т8 (6 мг/кг и 12 мг/кг), Фосеназид (3 мг/кг и 6 мг/кг). Контрольным животным в/в был введён эквивалентный объём физиологического раствора с эмульгатором.

Методы поведенческого тестирования / Behavioral testing methods

1. Для изучения двигательной и исследовательской (ориентировочной) реакции животных использовали установку «Открытое поле» (НПК «Открытая наука», Россия) [17]. Установка представляет собой камеру круглой формы (диаметр 63 см) с непрозрачными стенками (высота стенок 32 см), пол которой расчерчен на сектора для удобства визуальной регистрации. Кроме того, в полу имеются отверстия, имитирующие норки (диаметр 1 см). Испытуемое животное помещалось в центр модели, после чего за 3 минуты тестирования регистрировали следующие параметры:

I) Количество пересечённых линий, что отражает неспецифический уровень возбуждения (двигательная активность). Критерием перехода из одного сектора в другой являлось нахождение задних лап в новом секторе.

II) Количество обследованных отверстий, что является показателем исследовательской активности [16, 18].

2. Для оценки анксиолитической активности соединений были использованы методики «Приподнятый крестообразный лабиринт» (НПК, «Открытая наука», Россия), а также «Тёмно-светлая камера» (НПК «Открытая наука», Россия).

A) Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) позиционируется как один из наиболее чувствительных тестов для исследования тревожного поведения животного [16]. Установка ПКЛ представляет собой объединение четырёх пластиковых отсеков, два из которых окружены с 3 сторон непрозрачными стенками и представляют собой «закрытые рукава» (ЗР). Два оставшихся не имеют стен, более ярко освещены (400 люкс) и являются «открытыми рукавами» (ОР) (длина каждого рукава — 30 см, высота стенок ЗР — 15 см, ширина — 5 см). Таким образом, ЗР являются аналогом норы, а ОР — потенциально опасной областью.

В ходе тестирования животное помещали в центр лабиринта, носом к ОР, позволяли исследовать модель в течение 5 минут и регистрировали время нахождения мышью в ОР (с) установки, что является показателем уровня тревожности. Критерием регистрации захождения в определённый отсек лабиринта, считалось наличие всех 4 лап животного внутри соответствующего рукава [19].

B) Установка «Тёмно-светлая камера» (ТСК) считается аналогом методики ПКЛ и основана на стремлении мышью избегать ярко освещённых мест. Она представляет собой две одинаковые по размерам (20×20×20) сообщающиеся камеры — тёмную и светлую. Тёмная камера окрашена внутри в чёрный цвет, закрыта крышкой и является аналогом убежища для грызунов. Светлая камера окрашена в белый цвет, не имеет крышки, ярко освещена (400 люкс) и считается потенциально опасной областью.

При проведении тестирования исследуемое животное помещали в светлую камеру и в течение 5 минут регистрировали время нахождения в данном отсеке (с). Считается, что применение средств, обладающих анксиолитической активностью, увеличивает время нахождения в светлой части установки [16].

3. Для исследования антидепрессивных свойств соединений была использована установка «Поведенческое отчаяние» (ПО) (НПК «Открытая наука», Россия) [16]. Установка представляет собой прозрачный цилиндрический сосуд (высотой 30 см, диаметром 10 см), наполненный водой (15 см), температура которой — 21 °С. Данный тест основан на том, что мыши, принужденные плавать в ограниченном пространстве цилиндра, замирают. Считается, что замирание отражает состояние безысходности и уменьшается антидепрессантами. Таким образом, в данном тесте в течение 6 минут оценивали длительность периодов замирания животного (с) [20].

После тестирования каждого животного осуществляли дезодорацию установки с использованием 3 % перекиси водорода, а после каждой группы мышью поверхность обрабатывали 70 % раствором этанола.

Для оптимизации работы регистрация поведенческих реакций животных осуществлялась цифровой видеосистемой в компьютерной программе «EthovisionXT» (Noldus, Нидерланды), а показатели исследовательской активности животных в тесте «Открытое поле» оценивались при визуальном анализе видеофайлов в программе «RealTime» версии 1.15 (НПК «Открытая наука», Россия) [21].

Статистическая обработка результатов поведенческого тестирования проведена в программе GraphPadPrism8.0.1. с использованием t-критерия Стьюдента. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез $p < 0,05$. Результаты поведенческих тестов представлены графически в виде $M \pm SEM$, где M — среднее значение, SEM — стандартная ошибка среднего, p — уровень значимости.

Результаты / Results

1) Синтез производных ТСК

2-[2-(Дифенилфосфорил)ацетил]гидразинкарботиоамид (Т7) был синтезирован по реакции гидразида дифенилфосфорилуксусной кислоты и тиоцианата калия, а для синтеза 2-[2-(Дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразинкарботиоамида (Т8) использовали фенилизотиоцианат.

Взаимодействие Фосеназида с тиоцианатом калия в водном растворе в присутствии соляной кислоты привело к образованию тиосемикарбазида (Т7) с выходом 84 %. В ЯМР 1Н спектре соединения Т7 наблюдали сигналы протонов группы РСН₂ в области 3,57 м.д., ароматические протоны проявлялись в области 7,54–7,80 м.д., сигналы групп NH наблюдались в виде синглетов в области 9,39 и 10,14 м.д., протонам NH₂ группы соответствовал дублетный сигнал 7,99 м.д. В ИК-спектре присутствовали валентные колебания групп P = O (1165 см⁻¹), C = S (1268 см⁻¹), C = O (1701 см⁻¹), NH (3305, 3422 см⁻¹). Спектр ЯМР 31Р 29,20 м. д.

Взаимодействие Фосеназида с фенилизотиоцианатом в этиловом спирте приводило к образованию тиосемикарбазида (Т8) с выходом 90 %. В ЯМР 1Н спектре соединения Т8 присутствовали сигналы протонов группы РСН₂ в области 3,68 м.д., ароматические протоны проявлялись в области 7,18–7,81 м.д., сигналы групп NH наблюдали в виде трёх синглетов в области 9,81; 10,10; 10,43 м.д. Спектр ЯМР 31Р 29,89 м.д. Таким образом, данные элементного анализа подтверждают состав соединений Т7 и Т8.

Синтез новых фосфорилированных производных ТСК схематично представлен на рис. 2.

2) Исследование острой токсичности

Показатели LD₅₀ соединений при изучении острой токсичности при их в/б введении представлены в табл. 1.

Общая продолжительность наблюдения за животными после введения веществ составляла 3 дня. В первый день животные находились под наблюдени-

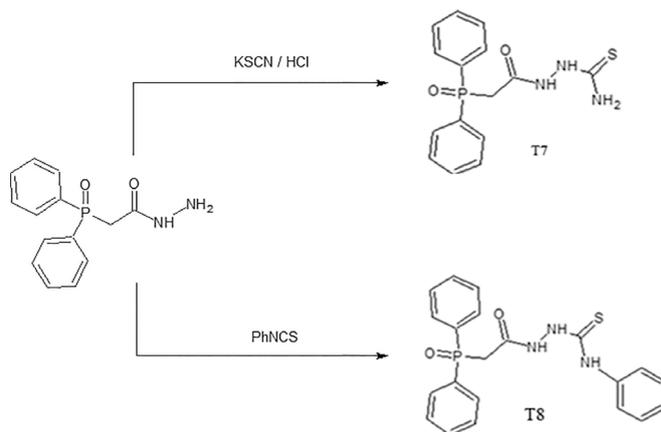


Рис. 2. Схема синтеза 2-[2-(Дифенилфосфорил)ацетил]гидразинкарботиоамида (Т7) и 2-[2-(Дифенилфосфорил)ацетил]-N-фенилгидразинкарботиоамида (Т8)
Fig. 2. Scheme for the synthesis of 2-[2-(Diphenylphosphoryl)acetyl]hydrazinecarbothioamide (T7) and 2-[2-(Diphenylphosphoryl)acetyl]-N-phenylhydrazinecarbothioamide (T8)

Таблица 1

Показатели острой токсичности производных тиосемикарбазидов и Фосеназида при внутрибрюшинном введении белым мышам-самцам

Table 1

Indicators of acute toxicity of thiosemicarbazide and Fosenazide derivatives during intraperitoneal administration to white male mice

№	Соединение	Средняя смертельная доза LD ₅₀ (мг/кг)
1	Т7	810±30
2	Т8	615±24
3	Фосеназид	315 ±35

ем в течение 6 часов. На протяжении всего периода наблюдений внешний вид и поведение животных не отличались от таковых у мышей контрольной группы.

Результаты, полученные при исследовании острой токсичности, позволяют отнести соединения Т7 и Т8 к «относительно безвредным», или «малотоксичным», согласно «Классификации токсичности веществ при введении под кожу и в брюшную полость животного» [22]. При сравнительной оценке исследуемых соединений с Фосеназидом, установлено, что они обладают более низкой токсичностью, а наименее токсичным является соединение Т7 (см. табл. 1).

После исследования острой токсичности соединений было проведено поведенческое тестирование.

3) Результаты поведенческого тестирования

Результаты изучения поведенческих реакций мышей на модели «Открытое поле» представлены на рис. 3.

В ходе исследования установлено, что введение мышам соединения Т8 в дозе 12 мг/кг и Фосеназида (3 мг/кг) способствовало увеличению двигательной активности, что выражалось в повышении числа пере-

сечённых линий в 1,4 ($p < 0,05$) и 1,3 ($p < 0,05$) раза, соответственно, по сравнению с контрольными животными. Введение Т7 в дозе 16 мг/кг характеризовалось снижением данного показателя в 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными мышами (рис. 3А).

Анализ исследовательской активности животных показал, что применение Т8 в обеих дозах увеличивает (в 1,5 раза ($p < 0,05$)) количество обследованных отверстий, а введение Т7 в дозе 16 мг/кг статистически значимо снижало количество обследованных отвер-

стей в 1,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с животными контрольной группы (рис. 3Б). В остальных группах статистически значимых отличий не выявлено.

Поскольку для Фосеназида и других производных дифенилфосфорилюксусной кислоты характерно наличие транквилизирующих (анксиолитических) свойств, нами была проведена оценка влияния новых фосфорилированных тиосемикарбазидов на состояние тревожности мышей в тестах ПКЛ и ТСК. Результаты представлены на рис. 4 и 5.

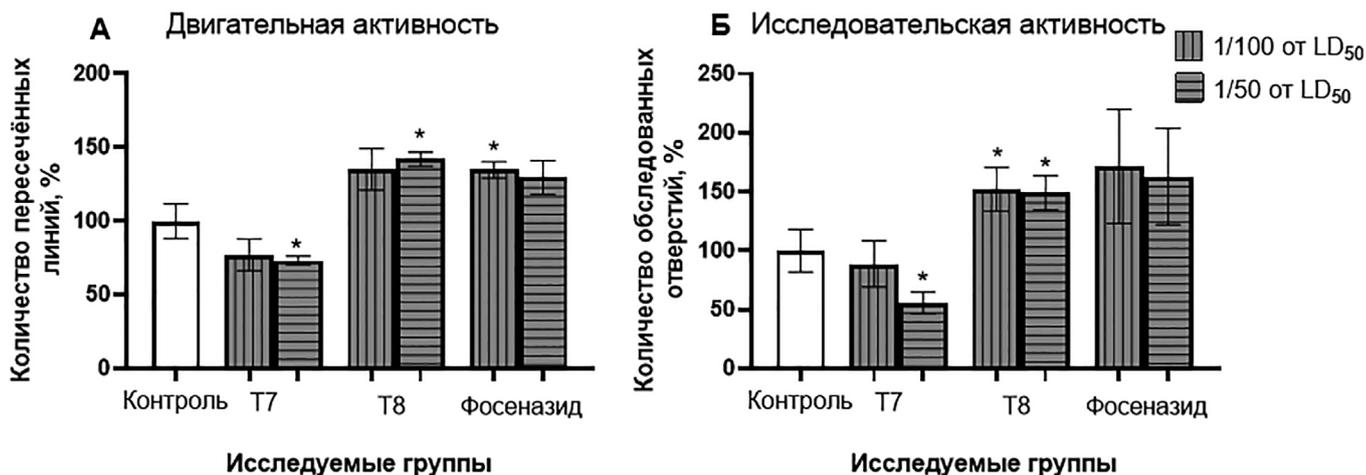


Рис. 3. Влияние фосфорилированных тиосемикарбазидов на двигательную (А) и исследовательскую (Б) активность мышей в тесте «Открытое поле»

Fig. 3. Effect of phosphorylated thiosemicarbazides on motor (A) and exploratory (B) activity of mice in the «Open Field» test
 Примечания: по оси абсцисс исследуемый показатель (%); по оси ординат — группы животных; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателям группы контроля.

Notes: on the abscissa axis, the studied indicator (%); on the ordinate axis — groups of animals; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences in relation to the indicators of the control group.

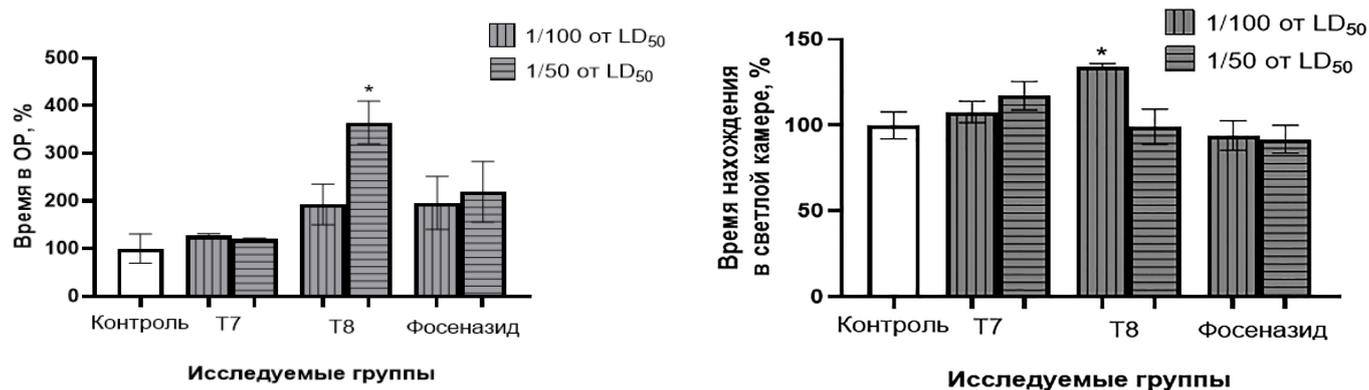


Рис. 4. Влияние фосфорилированных тиосемикарбазидов на время пребывания мышей в открытых рукавах (ОР) теста «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Fig. 4. Effect of phosphorylated thiosemicarbazides on the residence time of mice in the open arms (OR) of the «Elevated Plus Maze» test
 Примечания: по оси абсцисс — время нахождения в «открытых рукавах» (%); по оси ординат — группы животных; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателям группы контроля.

Notes: on the abscissa axis — the time spent in the "open sleeves" (%); on the ordinate axis — groups of animals; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences in relation to the indicators of the control group.

Рис. 5. Влияние фосфорилированных тиосемикарбазидов на время нахождения мышей в светлом отсеке теста «Тёмно-светлая камера»

Fig. 5. Effect of phosphorylated thiosemicarbazides on the time spent by mice in the light section of the «Dark-Light Chamber» test

Примечания: по оси абсцисс — время пребывания в светлом отсеке камеры (%); по оси ординат — группы животных; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателям группы контроля.
 Notes: on the abscissa axis — the time spent in the light compartment of the camera (%); on the ordinate axis — groups of animals; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences in relation to the indicators of the control group.

В тесте ПКЛ установлено, что поведение мышей, получавших соединение Т8 в дозе 12 мг/кг характеризовалось пониженным уровнем тревожности, который выражался в увеличении времени пребывания в ОР модели в 3,7 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными. В остальных группах статистически значимых отличий не выявлено (см. рис. 4).

В ходе тестирования на установке ТСК было показано, что введение соединения Т8 в дозе 6 мг/кг приводило к увеличению времени пребывания в светлой камере в 1,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными мышами, т. е. анксиолитическому действию. В остальных группах статистически значимых различий не обнаружено см. рис. 5).

Для выявления антидепрессивных свойств производных ФТК применяли тест ПО. В ходе исследования установлено, что введение Т8 в дозе 12 мг/кг уменьшает продолжительность времени замирания животных в 2,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой, т. е. способствует развитию антидепрессивного эффекта (рис. 6.).

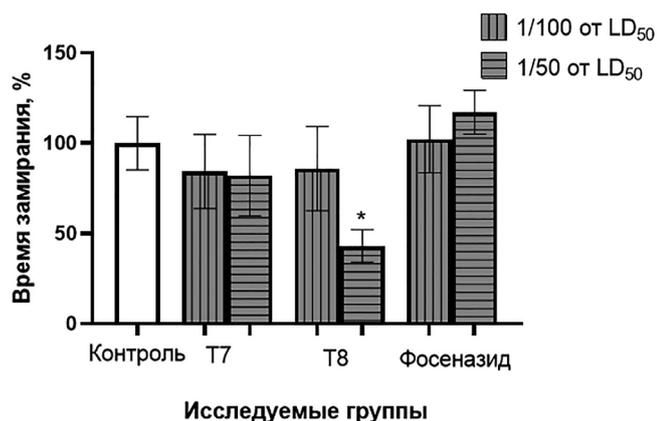


Рис. 6. Влияние фосфорилированных тиосемикарбазидов на время замирания мышей в тесте «Поведенческое отчаяние»

Fig. 6. Effect of phosphorylated thiosemicarbazides on the freezing time of mice in the «Behavioral Despair» test

Примечания: по оси абсцисс — время замирания животных (%); по оси ординат — группы животных; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателям группы контроля.

Notes: on the abscissa axis — the fading time of animals (%); on the ordinate axis — groups of animals; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences in relation to the indicators of the control group.

Обсуждение / Discussion

Данные литературы свидетельствуют о том, что лечение заболеваний ЦНС требует комплексного подхода в фармакологической коррекции [23, 24]. Ранее было показано, что ФАГ, имея в своей структуре четырёхкоординированный атом фосфора с различными функциональными группами, могут обеспечивать мультитаргетный механизм действия,

а модификации их структуры способны привести к изменению различных видов психотропной активности [13–15]. Не меньший интерес вызывает класс ТСК, обусловленный наличием нескольких реакционных центров и доступностью формирования различных N-, S-содержащих гетероциклических систем на их основе, а также широким спектром биологической активности данных структур [1–10].

В исследовании приводится описание синтеза новых производных ФТК (Т7 и Т8), изучена острая токсичность при в/б введении, а также влияние на поведение мышей в сравнении с их структурным аналогом — дифенилфосфорилацетогидразидом (фосеназидом).

При изучении острой токсичности соединений Т7 и Т8 при в/б введении выявлено, что они обладают более высоким профилем безопасности по сравнению с фосеназидом. Следует отметить, что наименьшие показатели токсичности отмечены у структуры Т7, что предположительно связано с наличием фенильного элемента в тиосемикарбазидной группе.

Для изучения влияния ФТК на поведение применяли модели «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Тёмно-светлая камера» и «Поведенческое отчаяние» [16].

Установка «Открытое поле» позволяет оценить влияние соединений на двигательную и исследовательскую активность, то есть формы поведения, естественные для грызунов [16, 17]. Установлено, что в/б введение ФТК характеризуется разнонаправленными эффектами: в случае соединения Т7 в дозе 16 мг/кг наблюдалось снижение двигательной и исследовательской активности мышей, что можно расценивать как угнетение функций ЦНС, а применение Т8 сопровождалось активизацией как двигательных (в дозе 6 мг/кг), так и исследовательских форм поведения (в обеих дозах), что может объясняться различием в структурах. Следует отметить, что при введении фосеназида в дозе 3 мг/кг наблюдалось повышение двигательной активности.

Известно, что производные дифенилфосфорилак-сусной кислоты способны проявлять анксиолитический эффект, для изучения которых были использованы тесты «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Тёмно-светлая камера» — общепринятые подходы для изучения подобного поведения [16]. Наиболее выраженное анксиолитическое действие при данном режиме введения, превосходящее как показатели контрольной группы, так и группы, получавшей препарат сравнения, наблюдалось в случае применения N-фенилзамещённого тиосемикарбазид (Т8): в дозе 12 мг/кг данный эффект наблюдался в тесте ПКЛ, а в дозе 6 мг/кг — в тесте ТСК.

Учитывая, что в литературе представлены данные о наличии некоторых антидепрессивных свойств у соединений с триазолсодержащими системами в структуре был выполнен тест на установке «Поведен-

ческое отчаяние» [13–15]. Тестирование показало, что наибольший антидепрессивный эффект был отмечен при введении животным соединения Т8 в дозе 12 мг/кг, что выражалось в сокращении продолжительности замиранья мышей. При введении фосеназида, а также Т7 вышеуказанного эффекта не наблюдалось, что может быть связано с отсутствием N-фенилзамещенного фармакофора в тиосемикарбазидной структуре.

Таким образом, новые производные ФТК менее токсичны по сравнению с их структурным аналогом фосеназидом, а самым безопасным является соединение Т7, не содержащее фенилфенильный радикал в тиосемикарбазидной структуре. Последующее изучение психотропной активности показало перспективность соединения N-фенилзамещенного тиосемикарбазида (Т8), обладающего выраженными анксиолитическими, антидепрессивными свойствами, а также активизирующее двигательные формы поведения.

Выводы / Conclusions

1) Соединение Т7 обладает более высоким профилем безопасности, что может быть связано с замещением в гидразидной группе дифенилфосфорилюксусной кислоты тиосемикарбазидным фрагментом.

2) Соединение N-фенилзамещенного тиосемикарбазида (Т8) в эксперименте демонстрирует анксиолитическое и антидепрессивное действие, превосходящее эффект структурного аналога — фосеназида.

3) Соединения ряда фосфорилированных производных тиосемикарбазидов являются перспективными для дальнейшего синтеза и разработки в качестве по-

тенциальных лекарственных препаратов, обладающих мультитаргетной психотропной активностью.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest in the submitted article.

Участие авторов. *Никитина А. В.* — проведение поведенческих экспериментов, обработка полученных результатов, написание текста статьи; *Семина И. И.* — концепция и дизайн исследования, общий анализ полученных данных, консультация при написании текста; *Никитин Д. О.* — проведение поведенческих экспериментов и обработка полученных результатов; *Гаврилова Е. Л.* — обзор литературы, постановка синтеза соединений; *Бурангулова Р. Н.* — постановка синтеза, интерпретация результатов; *Крутов И. А.* — выполнение синтеза, интерпретация результатов; *Исаева А. О.* — выполнение синтеза.

Participation of authors. *Nikitina AV* — conducting behavioral experiments, processing the results obtained, writing the text of the article; *Semina II* — concept and design of the study, general analysis of the data obtained, consultation when writing the text; *Nikitin DO* — conducting behavioral experiments and processing the results obtained; *Gavrilova EL* — literature review, formulation of synthesis of compounds; *Burangulova RN* — synthesis formulation, interpretation of results; *Krutov IA* — synthesis execution, interpretation of results; *Isaeva AO* — synthesis execution.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Никитина Анастасия Вадимовна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: namovol@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6219-6246>

Ассистент кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Anastasiya V. Nikitina

Corresponding author

e-mail: namovol@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6219-6246>

Assistant of the Department of Pharmacology, FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Семина Ирина Ивановна

e-mail: semina@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

д. м. н., профессор кафедры фармакологии, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией, ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Irina I. Semina

e-mail: semina@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Dr. Sci (Med.), Professor of the Department of Pharmacology, Head of the Central Research Laboratory, FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Никитин Дмитрий Олегович

e-mail: richard4777@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5773-867X>
 Ассистент кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО
 Казанский ГМУ Минздрава России, Казань,
 Российская Федерация

Dmitry O. Nikitin

e-mail: richard4777@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5773-867X>
 Assistant of the Department of Pharmacology,
 FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan,
 Russian Federation

Гаврилова Елена Леонидовна

e-mail: gavrilova_elena_@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8093-7095>
 Заведующая кафедрой органической химии
 имени академика А.Е. Арбузова, ФГБОУ ВО
 «КНИТУ», Казань, Российская Федерация

Elena L. Gavrilova

e-mail: gavrilova_elena_@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8093-7095>
 Head of the Department of Organic Chemistry
 named after academician AE Arbuzov, KNRTU,
 Kazan, Russian Federation

Бурангулова Рамиля Нурлыгаяновна

e-mail: rburangulova@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1426-0722>
 к. х. н., доцент кафедры органической химии
 имени академика А.Е. Арбузова, ФГБОУ ВО
 «КНИТУ», Казань, Российская Федерация

Ramilya N. Burangulova

e-mail: rburangulova@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1426-0722>
 PhD, Cand. Sci. (Chemical), Associate Professor of
 the Department of Organic Chemistry named after
 academician AE Arbuzov, KNRTU, Kazan, Russian
 Federation

Крутов Иван Алексеевич

e-mail: rburangulova@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1426-0722>
 к. х. н., доцент кафедры органической химии
 имени академика А.Е. Арбузова, ФГБОУ ВО
 «КНИТУ», Казань, Российская Федерация

Ivan A. Krutov

e-mail: cat_the_chemist@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8507-1785>
 PhD, Cand. Sci. (Chemical) of the Department of
 Organic Chemistry named after academician
 AE Arbuzov, KNRTU, Kazan, Russian Federation

Исаева Анастасия Олеговна

e-mail: tasaisaeva@gmail.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3330-9157>
 Заведующая комплексной лабораторией
 «Структура и состав органических веществ»,
 ФГБОУ ВО «КНИТУ», Казань, Российская
 Федерация

Anastasia O. Isaeva

e-mail: tasaisaeva@gmail.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3330-9157>
 Head of the complex laboratory "Structure and
 composition of organic substances", KNRTU,
 Kazan, Russian Federation

Список литературы / References

- Gopalakrishnan M, Sureshkumar P, Thanusu J, Kanagarajan V. Unusual formation of N-hydroxy-3,3-dimethyl-2,6-diarylpiperidin-4-one and its thiosemicarbazide derivative—synthesis and antimicrobial activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2008;42(5):271–276. DOI: 10.1007/s11094-008-0104-z.
- Banerjee D, Yogeewari P, Bhat P, et al. Novel isatinyl thiosemicarbazones derivatives as potential molecule to combat HIV-TB co-infection. *Eur J Med Chem*. 2011 Jan;46(1):106–121. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.10.020.
- Siddiqui N, Singh O. Antibacterial activity of some 4-N-substituted thiosemicarbazides and thiosemicarbazones. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2003;65 (4):423–425.
- Majumdar P, Pati A, Patra M, et al. Acid hydrazides, potent reagents for synthesis of oxygen-, nitrogen-, and/or sulfur-containing heterocyclic rings. *Chem Rev*. 2014 Mar 12;114(5):2942–2977. DOI: 10.1021/cr300122t.

- Siwek A, Stefańska J, Dzitko K, Ruszczak A. Antifungal effect of 4-arylthiosemicarbazides against *Candida* species. Search for molecular basis of antifungal activity of thiosemicarbazide derivatives. *J Mol Model*. 2012 Sep;18(9):4159–4170. DOI: 10.1007/s00894-012-1420-5.
- Thomas AM, Naik AD, Nethaji M, Chakravarty AR. Synthesis, crystal structure and photo-induced DNA cleavage activity of ternary copper(II) – thiosemicarbazone complexes having heterocyclic bases. *Inorganica Chimica Acta*. 2004;357:2315–2323. DOI: 10.1016/j.ica.2004.01.031.
- Seleem HS, El-Shetary BA, Khalil SME, et al. Structural diversity in copper(II) complexes of bis(thiosemicarbazone) and bis(semicarbazone) ligands. *Journal of Coordination Chemistry*. 2005;58:479–493. DOI: 10.1080/00958970512331334269.
- Reis CM, Pereira DS, Paiva Rde O, et al. Microwave-assisted synthesis of new N1,N4-substituted thiosemicarbazones. *Molecules*. 2011 Dec 20;16(12):10668–10684. DOI: 10.3390/molecules161210668.
- Plech T, Wujec M, Siwek A, Kosikowska U, Malm A. Synthesis and antimicrobial activity of thiosemicarbazides, s-triazoles and their Mannich

bases bearing 3-chlorophenyl moiety. *Eur J Med Chem.* 2011 Jan;46(1): 241–248. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.11.010.

10. Газиева Г.А., Кравченко А.Н. Тиосемикарбазиды в синтезе пяти- и шестичленных гетероциклических соединений. *Успехи химии.* 2012;81(6):494–523. [Gazieva GA, Kravchenko AN. Thiosemicarbazides in the synthesis of five- and six-membered heterocyclic compounds. *Russ Chem Rev.* 2012;81(6):494–523. (In Russ.)]. DOI: 10.1070/RC2012v081n06ABEH004235.

11. Hisle-Gorman E, Susi A, Stokes T, et al. Prenatal, perinatal, and neonatal risk factors of autism spectrum disorder. *Pediatric research.* 2018;84(2):190–198. DOI: 10.1038/pr.2018.23.

12. Varvaressou A, Siatra-Papastaikoudi T, Dalla Tsotinis A, et al. Synthesis, lipophilicity and biological evaluation of indole-containing derivatives of 1,3,4-thiadiazole and 1,2, 4-triazole. *Farmaco.* 1998 May 30;53(5):320–326. DOI: 10.1016/s0014-827x(98)00024-x.

13. Никитин Д.О., Плотникова А.В., Галимова Л.Ф. и др. Исследование психотропных свойств новых аналогов транквилизатора фосеназида. *Современные проблемы науки и образования.* 2016;(6):138–138. [Nikitin DO, Plotnikova AV, Galimova LF, et al, A study of psychotropic properties of the new analogues of tranquilizer phosenezid. *Modern problems of science and education.* 2016;(6):138–138. (In Russ.)]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25696>

14. Семина И.И., Байчурина А.З. Разработка новых потенциальных лекарственных средств с психотропной активностью среди фосфорилацетогидразидов и других производных фосфорилированных карбоновых кислот — приоритетное направление казанской школы психофармакологов. *Казанский медицинский журнал.* 2016;97(1):148–155. [Semina II, Baychurina AZ. Development of new potential drugs with psychotropic activity among phosphorylacetohydrazides and other phosphorylated carboxylic acids derivatives — priority area of Kazan school of psychopharmacologists. *Kazan Medical Journal.* 2016;97(1):148–155. (In Russ.)]. DOI: 10.17750/KMJ2016-148.

15. Семина И.И., Шиловская Е.В., Тарасова Р.И. и др. Механизмы психотропного действия гидразидов фосфорилированных карбоновых кислот. *Химико-фармацевтический журнал.* 2002;36(4):3–6. [Semina II, Shilovskaya EV, Tarasova RI, et al. Mekhanizmy psihotropnogo dejstviya gidrazidov fosforilirovannyh karbonovyh kislot. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2002;36(4):3–6. (In Russ.)]. DOI: 10.30906/0023-1134-2002-36-4-3-6.

16. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 / под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К; 2012. [Mironov AN,

Bunyatyan ND, Vasiliev AN, et al. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1 / Ed by AN Mironova. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ.)].

17. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J Vis Exp.* 2015 Feb 6;(96):e52434. DOI: 10.3791/52434.

18. Martin-Arenas FJ, Pintado CO. Results of the Open Field Test at different light intensities in C57 mice. *Proceedings of Measuring Behavior.* 2014:1–5. DOI: 10.13140/RG.2.2.29920.74247.

19. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc.* 2007;2(2):322–328. DOI: 10.1038/nprot.2007.44.

20. Гарибова Т.Л., Крайнева В.А., Воронина Т.А. Поведенческие экспериментальные модели депрессии. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2017;(3):14–19. [Garibova TL, Kraineva VA, Voronina TA. Animal models of depression. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2017;(3):14–19. (In Russ.)].

21. Sabatos-DeVito M, Murias M, Dawson G, et al. Methodological considerations in the use of Noldus EthoVision XT video tracking of children with autism in multi-site studies. *Biol Psychol.* 2019 Sep;146:107712. DOI: 10.1016/j.biopsycho.2019.05.012.

22. Березовская И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. *Химико-фармацевтический журнал.* 2003;37(3):32–34. [Berezovskaya IV. Classification of chemicals according to the parameters of acute toxicity in parenteral administration. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2003;37(3):32–34. (In Russ.)]. DOI: 10.30906/0023-1134-2003-37-3-32-34.

23. Васенина Е.Е., Левин О.С., Сонин А.Г. Современные тенденции в эпидемиологии деменции и ведении пациентов с когнитивными нарушениями. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски.* 2017;117(6 2):87–95. [Vasenina EE, Levin OS, Sonin AG. Modern trends in epidemiology of dementia and management of patients with cognitive impairment. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2017;117(6 2):87–95. (In Russ.)]. DOI: 10.17116/jnevro20171176287-95.

24. Науменко А.А., Громова Д.О., Трофимова Н.В., Преображенская И.А. Диагностика и лечение болезни Альцгеймера. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2016;8(4):91–97. [Naumenko AA, Gromova DO, Trofimova NV, Preobrazhenskaya IS. Alzheimer's disease: diagnosis and treatment. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2016;8(4):91–97. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2016-4-91-97.