



DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2023.4.14297>

УДК 615.214.22: 615.31

ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ГРИЗУНІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ПОХІДНИХ 1,2,3-ТРИАЗОЛО-1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНІВ У ТЕСТІ «ВІДКРИТОГО ПОЛЯ»

І. В. Боцула¹, І. В. Кіреєв¹, О. М. Кошовий¹, М. О. Мазур², В. А. Чебанов²

Національний фармацевтичний університет¹, м. Харків, Україна

Державна наукова установа Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» НАН України², м. Харків, Україна

botsula.iv@gmail.com

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
30.07.2023

Після доопрацювання / Revised:
13.09.2023

Прийнято до друку / Accepted:
15.09.2023

Ключові слова:

похідні тріазолобензодіазепінів;
тест «відкритого поля»;
спонтанна рухова активність;
грумінг;
миші.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Дослідити вплив нових синтезованих похідних 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепінів на поведінкові реакції гризунів у тесті «відкритого поля».

Матеріали і методи. Перед застосуванням 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепінів під шифрами МА-252, МА-253, МА-254, МА-255 та МА-261 у експериментах *in vivo* було здійснено тритурацію похідних з лактозою у співвідношенні 1:1000. Поведінкові реакції гризунів оцінювали у тесті «відкритого поля», під час якого реєстрували кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок, заглядань у нірки, актів дефекацій, уринацій та вмивань.

Результати й обговорення. Рухова активність, яка характеризується кількістю перетнутих квадратів, зростала при введенні похідного МА-253 в усіх досліджуваних дозах, порівняно з показником у групі контролю, та достовірно не відрізнялась від групи, яка отримувала гідазепам. Найбільшу кількість стійок, що є проявом орієнтовно-дослідницької активності тварини в умовах тесту, спостерігали в дослідних групах, що отримували похідні МА-253 та МА-255 в дозі 1 мг/кг та препарат-порівняння гідазепам. Зростання кількості обстежених нірок спостерігали в багатьох досліджуваних групах, однак значущі зміни були лише в групах, які отримували похідне МА-253 та гідазепам у дозі 1 мг/кг. Також встановлено вплив на емоційну компоненту поведінкових реакцій гризунів.

Висновки. Встановлено, що найвиразніші зміни здійснює похідне МА-253 в дозі 1 мг/кг, яке призводить до збільшення рухової та орієнтовно-дослідницької активності, при цьому зменшується сума емоційних проявів у тварин, що за характером впливу є подібним до препарату-порівняння гідазепаму. Така поведінка мишей може свідчити про зменшення рівня тривоги та психоемоційного напруження тварин, а також вказує на перспективність подальших досліджень фармакологічної активності похідного МА-253.

Вступ. Для вивчення тривоги та перевірки ефективності ансіолітичних сполук зазвичай використовують поведінкові тести на мишах та інших тваринах. Поведінкові тести на визначення рівня тривожності базуються або на умовному страху чи гострих реакці-

ях на страх, або на використанні конфлікту наближення та уникнення [1, 2].

Тест «відкрите поле» є одним із провідних інструментів оцінки впливу нових сполук з потенційними фармакологічною та біологічною активностями на

індивідуально-типологічні особливості поведінки гризунів, зокрема, їхню спонтанну рухову активність [3, 4]. Емоційна стійкість зазвичай корелює з кількісними показниками рухової та орієнтовно-дослідницької поведінки.

На сьогодні провідне місце серед анксиолітиків продовжують займати похідні 1,4-бензодіазепіну [5, 6]. Дослідження останніх років демонструють актуальність їхнього вивчення та пошук нових речовин на їхній основі для лікування тривожних станів та розладів, а також встановлення наявності інших біологічних активностей [7–9]. Так, наприклад, Головенко [5] у своїй роботі зазначає, що похідні 1,4-бензодіазепіну є найпоширенішими фармакологічними модуляторами, які за рахунок прямого стимулювального впливу на ГАМК-рецептор певного підтипу здійснюють анксиолітичну, седативну, аналгетичну, міорелаксувальну, протисудомну та інші дії. Попри наявність адиктивного потенціалу та здатності викликати лікарську залежність у даної групи засобів автор наголошує на можливості реалізації основного фармакологічного ефекту без побічних реакцій шляхом націлювання на окремі підтипи рецептора, що послужить стартом для створення нових лікарських засобів нейротропної дії. Mehrhoff та співавтори [7] досліджували вплив класичного анксиолітика діазепаму на захисну, пов'язану з тривогою, поведінку мишей у тесті «відкритого поля», де показали зниження показників, що демонструють тривогоподібні реакції тварин. Groenink [10] та співавтори провели мета-аналіз впливу препаратів на відчуття страху в патофізіології тривожних розладів. У своєму огляді вони відзначили, що агоністи ГАМК-А рецептора, зокрема бензодіазепіни, зменшують відчуття страху, що виникає у тварини в тесті на переляк, потенційований страхом.

У попередньому дослідженні [11] нами була встановлена відсутність негативного впливу синтезованих похідних 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепінів на координацію рухів та наявність легкого міорелаксанта ефекту в деяких із них у тестах «вертикальної сітки» та тесті стержня, що обертається, де останній використовується з метою визначення впливу сполук на вимушену рухову активність. У свою чергу, важливим є дослідження з проведення оцінки їхнього впливу на спонтанну рухову активність тварин.

Мета роботи – дослідити вплив нових похідних 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепінів на поведінкові реакції гризунів у тесті «відкритого поля».

Матеріали і методи. Нові похідні 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепіни під шифром MA-252, MA-253, MA-254, MA-255 та MA-261 були синтезовані під керівництвом завідувача відділу органічної та біоорганічної хімії ДНУ "НТК "Інститут монокристалів" НАН України доктора хімічних наук, професора В. А. Чебанова [12]. Перед застосуванням похідних у експериментах *in vivo* було здійснено тритурацію похідних з лактозою у співвідношенні 1:1000.

Дослідження проводили на білих безпородних мишах масою тіла 20–40 г, яких утримували в виварії Центральної науково-дослідної лабораторії Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету, в добре вентильованому приміщенні при звичному харчуванні, вільному доступі до їжі та із забезпеченням відповідного для гризунів 12-годинного циклу. Тварин рандомним чином поділили на групи по 6 особин у кожній: 1 – контрольна група, яка отримувала відповідний об'єм дистильованої води; 15 дослідних груп, яким вводили водний розчин похідного 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепіну в дозах 0,5 мг/кг, 0,75 мг/кг та 1 мг/кг, а також група порівняння, тварини якої отримали препарат порівняння гідазепам у дозі 1 мг/кг. Інтервал між введенням досліджуваного розчину та початком експерименту становив 1 годину для кожної миші.

Експеримент проводили з дотриманням вимог та принципів Директиви Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу від 22 вересня 2010 року «Про захист тварин, що використовуються в наукових цілях», а також дослідження схвалено комісією з біоетики НФаУ (протокол № 4 від 02.10.2020) [13, 14].

Поведінкові реакції дослідних тварин оцінювали в тесті «відкритого поля» [15]. «Відкрите поле» є білою квадратною платформою на ніжках розміром 20×20 см з бортами висотою 14 см, підлога якої поділена на 16 однакових квадратів (4×4) із отворами діаметром 2 см у центрі кожного квадрата. Тварину розміщували в центр поля та спостерігали протягом 3 хвилин. Реєстрували такі показники: кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок, заглядань у нірки, актів дефекацій, уринацій та вмивань [16]. Тестовий апарат протирали 96 % етанолом, щоб запобігти будь-яким запахам попередньої тварини перед тестуванням наступної.

Результати представляли в вигляді середнього значення зі стандартним відхиленням. Різницю між групами аналізували за допомогою критерію Стюдента (у випадку нормального розподілу). Статистично значущими вважали зміни при $p < 0,05$.

Результати й обговорення. Тест «відкритого поля» вважається базовим при дослідженні поведінкових реакцій та спонтанної рухової діяльності гризунів.

Результати впливу похідних 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепінів на рухову активність гризунів відображені на рисунку 1. Достовірної різниці між кількістю перетинань відкритого поля в групах тварин, які отримували досліджувані речовини під шифром MA-252 в дозі 0,5 мг/кг, MA-254, MA-255 та MA-261 у межах досліджуваних доз, не спостерігали. Крім того, у дозі 0,5 мг/кг у всіх зазначених вище групах була майже на таку ж, як і показник в групі контролю ($p > 0,05$). Рухова активність мишей, яким вводили похідне MA-252 в дозах 0,75 мг/кг та 1 мг/кг підвищувалась на 17 % ($p < 0,05$) та 31 % ($p < 0,01$), відповідно (у порів-

нянні з контрольними тваринами). Кількість перетнутих квадратів приладу тваринами, які отримували МА-253, зростала з підвищенням досліджуваної дози: на 23 % у дозі 0,5 мг/кг, 25 % – на 0,75 мг/кг та на 31 % – 1 мг/кг, дані зміни були статистично значущими ($p < 0,01$). Варто зазначити, що цей показник у групах мишей, що отримували МА-252 та МА-253 у найбільшій досліджуваній дозі, не відрізнявся від такого у групі тварин, яким вводили гідазепам у дозі 1 мг/кг, де він, у свою чергу, був на 22 % вищим, ніж у групі контролю.

Кількість перетнутих квадратів використовується як показник рівня рухової активності для оцінки ефекту седативних чи анксиолітичних засобів, а також рівня занепокоєння, які демонструють тварини [1]. До прикладу, Starchenko та співавтори [17] виявили, що екстракт вересу збільшував кількість перетнутих квадратів у тесті «відкритого поля», водночас здійснюючи стимулювальний вплив на емоційну складову поведінки мишей. При вивченні впливу екстрактів пустирника в комбінації з амінокислотами визначили, що найактивнішими виявилися екстракти пустирника в комплексах з валіном, гліцином, аргініном і цистеїном, які, в свою чергу, призводили до підвищення рухової та пошукової активності піддослідних щурів при зниженні показників емоційного стану тварин [18]. При дослідженні психо- та нейротропних властивостей нових 3-(NR,R'-амінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-онів було встановлено, що з переліку похідних деякі сполуки, зокрема сполука під шифром 2с, зменшували кількість перетинань, що свідчить про слабку

седативну дію на мишей, інші ж, такі як 2g та 2f, проявляли стимулювальну дію, підвищуючи рухову активність [16]. Класичний анксиолітик бензодієпінового ряду діазепам у дозі 1,5 мг/кг зменшував показники загальної локомоції та дослідницької діяльності [19]. Разом з тим, інше дослідження діазепаму в цій же дозі показало відсутність впливу на кількість перетнутих квадратів; зниження цього показника спостерігали у дещо вищій дозі – 2–3 мг/кг [20].

Проявом орієнтовно-дослідницької діяльності мишей є кількість вертикальних стійок, що оцінюється як природна поведінка тварини, яка має на меті зорієнтуватись у просторі та оцінити ситуацію навколо себе [4, 15, 21]. Як видно з отриманих результатів (рис. 2, А), тварини контрольної групи не дуже активно приймали позу з опорою на задні лапи. Найбільшу кількість стійок спостерігали в дослідних групах, які отримували похідні МА-253 та МА-255 в дозі 1 мг/кг, та препарат порівняння гідазепам. Різниця між цими групами та контролем виявилась значущою ($p < 0,05$). Kuniishi та співавтори [20] виявили, що кількість вертикальних стійок на тлі введення діазепаму зменшувалась, проте під час інтенсивного освітлення зростала, що є проявом анксиогенної дії у гризунів. Результати іншого дослідження [17] показали, що екстракт вересу звичайного здійснював стимулювальний ефект на орієнтовно-дослідницьку активність тварин, тоді як екстракт валеріани лікарської зменшував вертикальну складову орієнтовної активності, що розцінюється як прояв гальмівного ефекту на центральну нервову систему тварини.

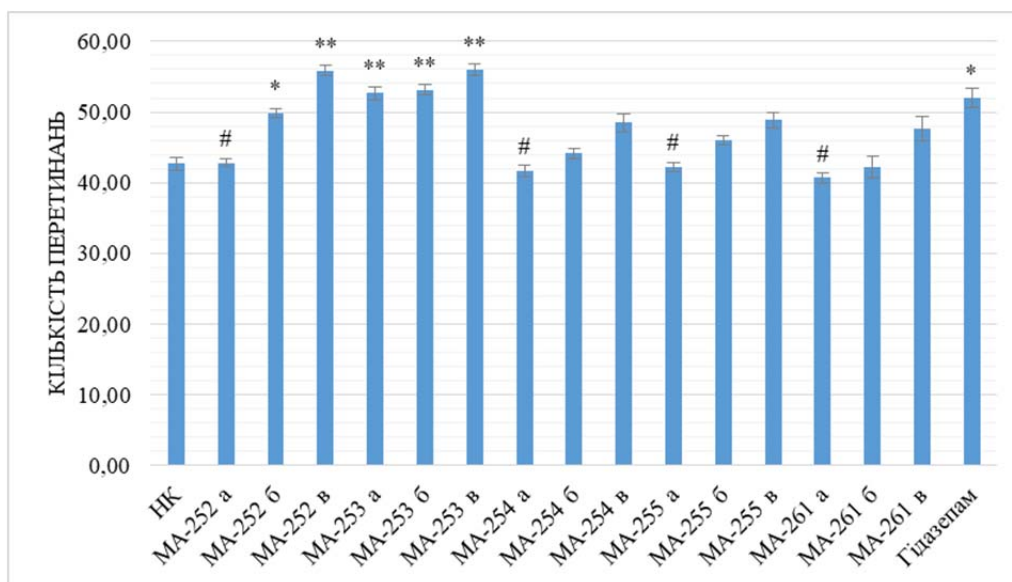


Рис. 1. Вплив нових похідних на локомоторну активність гризунів у тесті «відкритого поля». *Примітки:* а – у дозі 0,5 мг/кг; б – в дозі 0,75 мг/кг; в – у дозі 1 мг/кг; * – відмінність достовірна щодо групи контролю, $p < 0,05$; ** – відмінність достовірна щодо групи контролю, $p < 0,01$. # – відмінність достовірна щодо групи тварин, які отримували гідазепам, $p < 0,05$; ## – відмінність достовірна щодо групи тварин, які отримували гідазепам, $p < 0,01$.

Іншим різновидом орієнтовно-дослідницької поведінки гризунів є кількість заглядань у нірки, що представляє прояв ніркового рефлексу тварини та відображає її здатність досліджувати простір [21]. Отримані результати впливу на даний показник (рис. 2, Б) продемонстрували зростання кількості обстежених нірок у багатьох досліджуваних групах, однак значущі зміни спостерігали лише в групах, які отримували похідне МА-253 та гідазепам у дозі 1 мг/кг. Загалом

вважається, що занепокоєння пригнічує прагнення тварин досліджувати нове середовище, тоді як менш занепокоєні тварини, навпаки, досліджуватимуть його порівняно інтенсивніше [22].

Важливим аспектом дослідження є визначення впливу нових похідних бензодіазепіну на емоційну компоненту поведінкових реакцій досліджуваних тварин у тесті «відкритого поля» (табл. 1). Суттєвих змін вегетативних показників поведінки, зокрема

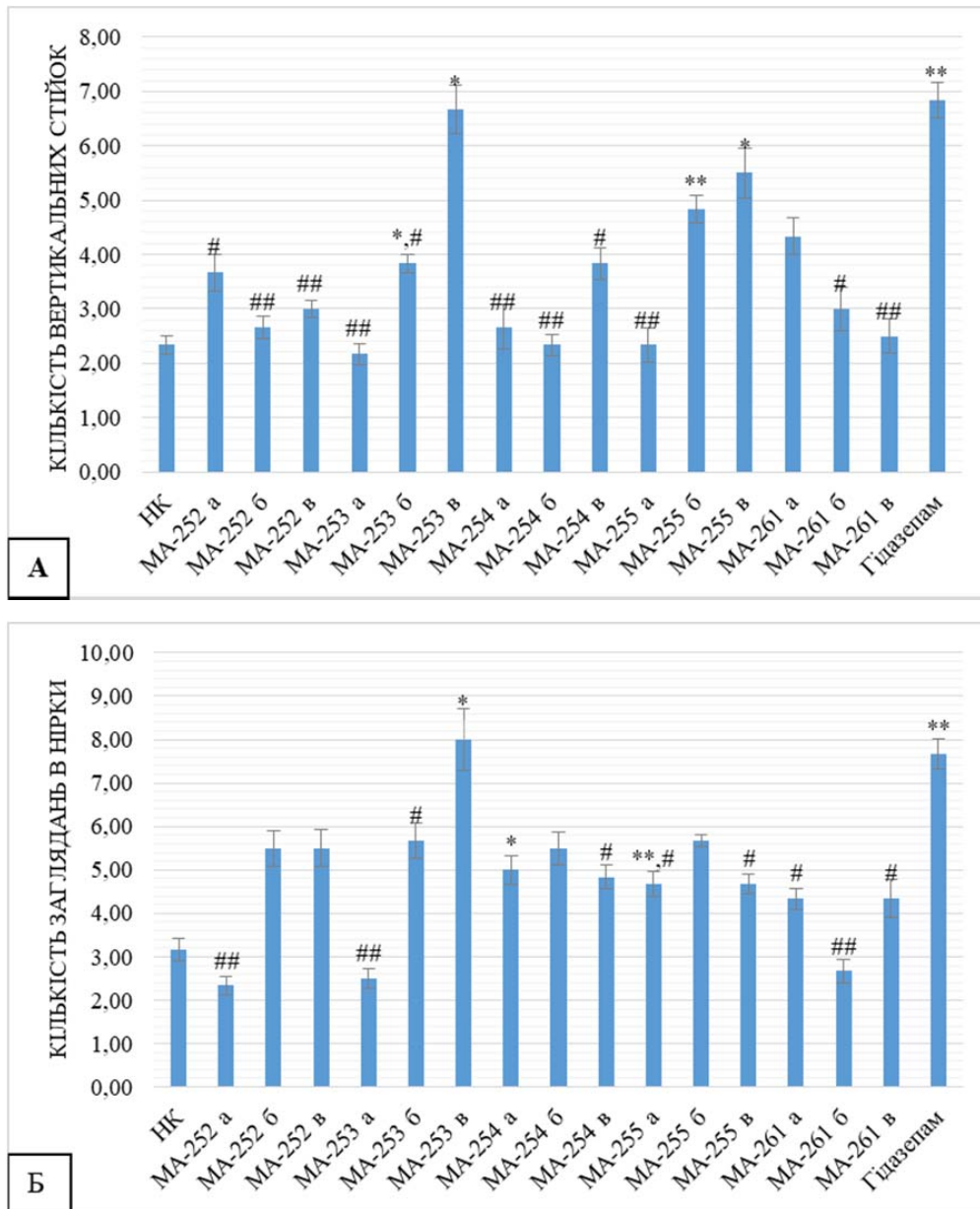


Рис. 2. Вплив нових похідних на орієнтовно(А)-дослідницьку(Б) активність гризунів у тесті «відкритого поля».

Примітки: а – в дозі 0,5 мг/кг; б – в дозі 0,75 мг/кг; в – в дозі 1 мг/кг; * – відмінність достовірна щодо групи контролю, $p < 0,05$; ** – відмінність достовірна щодо групи контролю, $p < 0,01$. # – відмінність достовірна щодо групи тварин, які отримували гідазепам, $p < 0,05$; ## – відмінність достовірна щодо групи тварин, які отримували гідазепам, $p < 0,01$.

Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин
Pharmacological researches of biologically active substances

кількості уринацій, в усіх дослідних групах, в порівнянні з контрольними тваринами, не спостерігалось. Проте у групах гризунів, яким вводили похідне МА-253 у дозах 0,75 мг/кг та 1 мг/кг, МА-252 та МА-254 у дозі 1 мг/кг, МА-255 у дозі 0,75 мг/кг, кількість дефекацій була меншою.

Грумінг у гризунів вважається адаптивною поведінкою при стресі, захисною реакцією відволікання [21, 23]. Результати наших досліджень не виявили дозозалежного ефекту досліджуваних сполук, проте відзначається істотне зменшення кількості вмивань у групах тварин, що отримували похідне МА-253 та МА-254 в усіх досліджуваних дозах, МА-252 в дозах 0,5 мг/кг та 0,75 мг/кг, МА-255 в дозі 0,5 мг/кг та МА-261 в дозі 0,75 мг/кг, порівняно з контролем ($p < 0,05$).

При аналізі суми показників емоційного стану тварини встановлено, що введення похідних МА-252 та МА-253 у дозах 0,75 мг/кг та 1 мг/кг, МА-254 та МА-261 в дозі 1 мг/кг, а також МА-255 у дозі 0,75 мг/кг впливає на даний інтегральний індекс, суттєво знижуючи його в порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$). Часте і коротке за часом «умивання» вважається тривожним грумінгом, а високий рівень дефекації водночас додатково вказує на тривожність тварини, її занепокоєння і страх. Зменшення емоційних показників поведінкових реакцій на тлі введення досліджуваних похідних може свідчити про зменшення рівня стривоженості та емоційного напруження гризунів в умовах використаного тесту.

Таблиця 1

Вплив нових похідних на емоційний стан тварин під час тесту «відкритого поля»

Група	Доза, мг/кг	Кількість дефекацій	Кількість уринацій	Кількість вмивань	Сума показників емоційного стану
Контроль	-	2,17±0,22	0,00±0,00	1,67±0,14	3,83±0,29
МА-252	0,5	1,17±0,13	0,50±0,09	0,67±0,14	2,33±0,14
	0,75	0,83±0,13	0,50±0,09	0,33±0,09**	1,67±0,09*
	1,0	0,50±0,09*	0,00±0,00	0,50±0,09*	1,00±0,15**
МА-253	0,5	1,83±0,25	0,50±0,09	0,50±0,14*	2,83±0,32
	0,75	0,50±0,09*	0,00±0,00	0,00±0,00**	0,50±0,09**
	1,0	0,17±0,07*.#	0,17±0,07	0,00±0,00**	0,33±0,09**.#
МА-254	0,5	0,83±0,13	0,50±0,14	0,50±0,09*	1,83±0,27
	0,75	1,33±0,14	0,50±0,14	0,17±0,07**	2,00±0,30
	1,0	0,33±0,09*	0,17±0,07	0,33±0,09**	0,83±0,13**
МА-255	0,5	1,00±0,15	0,67±0,14	0,33±0,09**	2,00±0,24
	0,75	0,67±0,14*	0,00±0,00	0,67±0,14	1,33±0,25*
	1,0	0,83±0,19	0,00±0,00	1,00±0,15	1,83±0,25
МА-261	0,5	1,50±0,25	0,00±0,00	1,00±0,11	2,50±0,35
	0,75	1,50±0,23	0,33±0,09	0,67±0,09*	2,50±0,27
	1,0	0,83±0,13	0,00±0,00	0,83±0,13	1,67±0,20*
Гідазепам	1,0	1,00±0,11	0,33±0,09	0,67±0,14	2,00±0,24

Примітки: 1. * – відмінність достовірна щодо групи контролю, $p < 0,05$.

2. ** – відмінність достовірна щодо групи контролю, $p < 0,01$.

3. # – відмінність достовірна щодо групи тварин, які отримували гідазепам, $p < 0,05$.

Висновки. В ході дослідження впливу нових похідних 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепіну на поведінкові реакції гризунів (мишей) у тесті «відкритого поля» встановлено, що найвиразніші зміни відбуваються під впливом похідного МА-253 у дозі 1 мг/кг, оскільки збільшується рухова та орієнтовно-дослідницька активність, при цьому зменшується сума емоційних проявів у тварин, що за характером впливу є подібним до препарату порівняння гідазепаму. Така

поведінка мишей на тлі введення похідних 1,2,3-тріазоло-1,4-бензодіазепінів, зокрема, МА-252 та МА-253, може свідчити про зменшення рівня тривожності та психоемоційного напруження тварин, а також перспективу подальших досліджень фармакологічної активності цих сполук.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflict of interest: authors have no conflict of interest to declare.

BEHAVIORAL REACTIONS OF RODENTS AFTER ADMINISTRATION OF THE 1,2,3-TRIAZOLO-1,4-BENZODIAZEPINES DERIVATIVES IN THE OPEN FIELD TEST

I. V. Botsula¹, I. V. Kireyev¹, O. M. Koshovyj¹, M. O. Mazur², V. A. Chebanov²

¹National University of Pharmacy, Kharkiv

²Division of Chemistry of Functional Materials, State Scientific Institution "Institute for Single Crystals" of National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv

botsula.iv@gmail.com

The aim of the work. Study of the effect of new 1,2,3-triazolo-1,4-benzodiazepine derivatives on the behavioral reactions of rodents in the "open field" test.

Materials and Methods. Before using 1,2,3-triazolo-1,4-benzodiazepines under the code MA-252, MA-253, MA-254, MA-255 and MA-261 in *in vivo* experiments, the derivatives were triturated with lactose in a ratio of 1:1000. Behavioral reactions of rodents were evaluated in the "open field" test, during which the number of crossed squares, rearings, exploratory nose-pokes, acts of defecation, urination and grooming were recorded.

Results and Discussion. The locomotor activity, which is characterized by the number of crossed squares, increased with the introduction of the MA-253 derivative in all investigated doses compared to the index in the control group and was not significantly different from the animals' group receiving gidazepam. The largest number of rearings, which is a manifestation of the exploratory activity of the animal under the test conditions, was observed in the experimental groups that received MA-253 and MA-255 derivatives in a dose of 1 mg/kg and the comparison drug gidazepam. Many of the studied groups observed an increase in the number of nose-pokes, but significant changes were only in the groups that received the MA-253 derivative and gidazepam at a dose of 1 mg/kg. The effect on the emotional component of the behavioral reactions of rodents has also been established.

Conclusions. It was found that the MA-253 derivative in a dose of 1 mg/kg produces the most significant changes, increasing locomotor and orientation-exploratory activity, while reducing the number of emotional manifestations in animals, which in terms of effect is similar to the reference drug gidazepam. Such mice behavior may indicate a reduction in the level of anxiety and psycho-emotional stress of animals, as well as the prospect of further studies of pharmacological activity.

Key words: triazolobenzodiazepine derivatives; "open field" test; spontaneous locomotor activity; grooming; mice.

Перелік бібліографічних посилань

1. Harro J. Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural Brain Research*. 2018. Vol. 352. P. 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.016>.
2. Establishing operant conflict tests for the translational study of anxiety in mice. S. Oberrauch, H. Sigrist, E. Sautter et al. *Psychopharmacology (Berl)*. 2019. Vol. 236, No 8. P. 2527–2541. DOI: 10.1007/s00213-019-05315-y.
3. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*. 2003. Vol. 463, No. 1–3. P. 3–33. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X).
4. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, Second Edition / ed. by J. Buccafusco. CRC Press, 2008. <https://doi.org/10.1201/noe1420052343>.
5. Головенко М. Я. Роль похідних 1,4-бензодіазепіну та споріднених сполуку вивченні морфофункціональної організації нейрорецепторів ГАМК (огляд літератури). *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, № 6. С. 375–388.
6. Pharmacotherapy of Anxiety Disorders: Current and Emerging Treatment Options. A. Garakani, J. W. Murrough, R. C. Freirem et al. *Front. Psychiatry*. 2020. Vol. 11. P. 595584. DOI: 10.3389/fpsy.2020.595584.
7. Diazepam effects on anxiety-related defensive behavior of male and female high and low open-field activity inbred mouse strains. E. A. Mehrhoff, W. C. Booher, L. Hutchinson et al. *Physiol. Behav.* 2023. Vol. 271. P. 114343. DOI: 10.1016/j.physbeh.2023.114343.
8. Study of novel triazolo-benzodiazepine analogues as antidepressants targeting by molecular docking and ADMET properties prediction. A. Belhassan, H. Zaki, M. Benlyas et al. *Heliyon*. 2019. No 9. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02446>
9. Diazepam and exercise training combination synergistically reduces lipopolysaccharide-induced anxiety-like behavior and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice. H. Amouzad Mahdirezai, M. Peeri, M. A. Azarbayjani, F. F. Masrour. *Neurotoxicology*. 2023. Vol. 97. P. 101–108. DOI: 10.1016/j.neuro.2023.06.004.
10. Pharmacological modulation of conditioned fear in the fear-potentiated startle test: a systematic review and meta-analysis of animal studies. L. Groenink, P. M. Verdouw, Y. Zhao et al. *Psychopharmacology*. 2023. Vol. 240. P. 2361–2401. <https://doi.org/10.1007/s00213-022-06307-1>
11. The influence of new 1,2,3-triazolo-1,4-benzodiazepine derivatives on the muscle tone of rodents. I. Botsula, I. V. Kireyev, O. M. Koshovyj, V. A. Chebanov. *Current Issues in Pharmacy and Medicine: Science and*

- Practice*. 2023. Vol. 16, No. 3. P. 217–222. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.3.287999>.
12. Effective Microwave-Assisted Approach to 1,2,3-Triazolobenzodiazepinones via Tandem Ugi Reaction/Catalyst-Free Intramolecular Azide–Alkyne Cycloaddition. M. Mazur, O. S. Zhelavskiy, E. M. Zviagin et al. *Beilstein J. Org. Chem.* 2021. Vol. 17, No. 1. P. 678–687. <https://doi.org/10.3762/bjoc.17.57>.
 13. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Communities. 2010. L 276. P. 33–79.
 14. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: *The National Academies Press*, 2011. 246 p.
 15. Stefanov, O. V. Preclinical studies of drugs. *Avicenna*: Kyiv, 2001.
 16. Podolsky I. M., Shtrygol' S. Y., Zubkov V. O. The psycho- and neurotropic profiling of novel 3-(N-R,R'-aminomethyl)-2-methyl-1H-quinolin-4-ones in vivo. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2018. Vol. 26, No. 1. P. 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.10.005>.
 17. Phytochemical Profile and Pharmacological Activities of Water and Hydroethanolic Dry Extracts of *Caluna vulgaris* (L.) Hull. Herb. G. Starchenko, A. Hrytsyk, A. Raal, O. Koshovyi. *Plants*. 2020. Vol. 9, No. 6. P. 751. <https://doi.org/10.3390/plants9060751>.
 18. Phytochemical and Psychotropic Research of Motherwort (*Leonurus cardiaca* L.) Modified Dry Extracts. O. Koshovyi, A. Raal, I. Kireyev et al. *Plants*. 2021. Vol. 10, No. 2. P. 230. <https://doi.org/10.3390/plants10020230>.
 19. Choleris E. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2001. Vol. 25, No. 3. P. 235–260. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(01\)00011-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(01)00011-2).
 20. Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. H. Kuniishi, S. Ichisaka, M. Yamamoto et al. *Neuroscience Research*. 2017. Vol. 123. P. 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.04.012>.
 21. Муквич В. В., Ляшенко В. П., Лукашов С. М. Вікові зміни поведінкових реакцій самців та самок щурів у тесті відкрите поле. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки*. 2017. № 2. С. 75–78.
 22. Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. M. Rosso, R. Wirz, A. V. Loretan et al. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2022. Vol. 143. P. 104928. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiorev.2022.104928>.
 23. Тозюк О. Ю. Характеристика емоційно-поведінкових реакцій щурів в умовах хронічного іммобілізаційного стресу на тлі дії похідного 5-R-тіо-тетразоло (1,5-с) хіназоліну. *Запорожский медицинский журнал*. 2013. № 5. С. 57–59. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zmzh_2013_5_18.

References

1. Harro J. Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behav Brain Res*. 2018;352: 81-93. <https://doi:10.1016/j.bbr.2017.10.016>.
2. Oberrauch S, Sigrist H, Sautter E, Gerster S, Bach DR, Pryce CR. Establishing operant conflict tests for the translational study of anxiety in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2019;236(8): 2527-2541. DOI: 10.1007/s00213-019-05315-y.
3. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*. 2003;463(1-3): 3-33. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)01272-x](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01272-x).
4. Buccafusco JJ (Ed.). *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. (2nd ed.). CRC Press/Taylor & Francis. 2009. <https://doi.org/10.1201/noe1420052343>.
5. Golovenko MY. The role of 1,4-benzodiazepine derivatives and related compounds in studying the morphofunctional organization of GABA neuroreceptors (literature review). *Pharmacology and medicinal toxicology*. 2020;14(6): 375-88.
6. Garakani A, Murrrough JW, Freirem RC, Thom RP, Larkin K, Buono FD, Iosifescu DV. Pharmacotherapy of Anxiety Disorders: Current and Emerging Treatment Options. *Front. Psychiatry*. 2020;11: 595584. DOI: 10.3389/fpsyt.2020.595584.
7. Mehrhoff EA, Booher WC, Hutchinson J, Schumacher G, Borski C, Lowry CA, Hoeffler CA, Ehringer MA. Diazepam effects on anxiety-related defensive behavior of male and female high and low open-field activity inbred mouse strains. *Physiol Behav*. 2023 Nov 1;271:114343. DOI: 10.1016/j.physbeh.2023.114343.
8. Belhassan A, Zaki H, Benlyas M, Lakhlifi T, Bouachrine M. Study of novel triazolo-benzodiazepine analogues as antidepressants targeting by molecular docking and ADMET properties prediction. *Heliyon*. 2019;5(9), e02446. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02446>.
9. Amouzad Mahdirejei H, Peeri M, Azarbayjani MA, Masrouf FF. Diazepam and exercise training combination synergistically reduces lipopolysaccharide-induced anxiety-like behavior and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice. *Neurotoxicology*. 2023;97: 101-108. DOI: 10.1016/j.neuro.2023.06.004. Epub 2023 Jun 7. PMID: 37295748.
10. Groenink L., Verdouw P.M., Zhao Y. Pharmacological modulation of conditioned fear in the fear-potentiated startle test: a systematic review and meta-analysis of animal studies. *Psychopharmacology*. 2023;240: 2361-401. <https://doi.org/10.1007/s00213-022-06307-1>
11. Botsula IV, Kireyev IV, Koshovyi OM, Chebanov VA. The influence of new 1,2,3-triazolo-1,4-benzodiazepine derivatives on the muscle tone of rodents. *Current Is-*

- sues in Pharmacy and Medicine: Science and Practice. 2023;16(3): 217-22. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.3.287999>
12. Mazur MO; Zhelavskiy OS; Zviagin EM; Shishkina SV; Musatov VI; Kolosov MA; Shvets EH; Andryushchenko AY; Chebanov VA. Effective Microwave-Assisted Approach to 1,2,3-Triazolobenzodiazepinones via Tandem Ugi Reaction/Catalyst-Free Intramolecular Azide-Alkyne Cycloaddition. *Beilstein J Org Chem.* 2023;17(1): 678-87. <https://doi.org/10.3762/bjoc.17.57>.
 13. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Communities.* 2010;276: 33-79.
 14. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: The National Academies Press. 2011;246.
 15. Stefanov OV. Preclinical studies of drugs. Avicenna: Kyiv, 2001.
 16. Podolsky IM, Shtrygol' SY, Zubkov VO. The psycho- and neurotropic profiling of novel 3-(N-R,R'-aminomethyl)-2-methyl-1H-quinolin-4-ones in vivo. *Saudi Pharm J.* 2018; 26(1):107-114. doi:10.1016/j.jsps.2017.10.005
 17. Starchenko G, Hrytsyk A, Raal A, Koshovyi O. Phytochemical profile and pharmacological activities of water and hydroethanolic dry extracts of *Calluna vulgaris* (L.) Hull. *herb. Plants.* 2020;9: 751. <https://doi.org/10.3390/plants9060751>.
 18. Koshovyi O, Raal A, Kireyev I, Tryshchuk N, Ilina T, Romanenko Y, Kovalenko S, Bunyatyan N. Phytochemical and Psychotropic Research of Motherwort (*Leonurus cardiaca* L.) Modified Dry Extracts. *Plants.* 2021;10: 230. <https://doi.org/10.3390/plants10020230>.
 19. Choleris E, Thomas AW, Kavaliers M, Prato FS. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and biobehavioral reviews.* 2001;25(3): 235-60. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(01\)00011-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(01)00011-2).
 20. Kuniishi H, Ichisaka S, Yamamoto M, Ikubo N, Matsuda S, Futora E, Harada R, Ishihara K, Hata Y. Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neuroscience research.* 2017;123: 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.04.012>.
 21. Mukvych VV, Lyashenko VP, Lukashov SM. Age-related changes in the behavioral responses of male and female rats in the open field test. *Bulletin of the Zaporizhian National University. Biological sciences.* 2017;2: 75-78.
 22. Rosso M, Wirz R, Loretan AV, Sutter NA, Pereira da Cunha CT, Jaric I, Würbel H, Voelkl B. Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. *Neuroscience and biobehavioral reviews.* 2022;143:104928. <https://doi.org/10.1016/j.neubio-rev.2022.104928>.
 23. Tozyuk OY. Characteristics of emotional and behavioral reactions of rats under conditions of chronic immobilization stress against the background of the action of the 5-R-thio-tetrazolo (1,5-s) quinazoline derivative. *Zaporozhye Medical Journal.* 2013;5: 57-59. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zmzh_2013_5_18.

Відомості про авторів

Боцула І. В. – аспірантка кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна. *E-mail: botsula.iv@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5226-8699.

Кіреєв І. В. – д. мед. наук, професор, завідувач кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна. E-mail: ivkireev@ukr.net, ORCID: 0000-0002-5413-9273.

Кošовий О. М. – д. фармац. наук, професор кафедри фармакогнозії та нутриціології, Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна. E-mail: oleh.koshovyi@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5226-8699.

Мазур М. О. – інженер відділу органічної та біоорганічної хімії ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України, Харків, Україна. E-mail: mazur.m.a47@gmail.com.

Чебанов В. А. – д. хім. наук, професор, член-кореспондент НАН України, перший заступник генерального директора з наукової роботи ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України, Харків, Україна. E-mail: chebanov@isc.kh.ua, ORCID: 0000-0001-7564-778X.

Information about the authors

Botsula I. V. – postgraduate student of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. *E-mail: botsula.iv@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5226-8699.

Kireyev I. V. – DSc (Medicine), Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. e-mail: ivkireev@ukr.net, ORCID: 0000-0002-5413-9273.

Koshovyi O. M. – DSc (Pharmacy), Professor of the Department of Pharmacognosy and Nutriciology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. e-mail: oleh.koshovyi@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5226-8699.

Mazur M. O. – Engineer of the Department of Organic and Bioorganic Chemistry of State Scientific Institution "Institute for Single Crystals" NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine, e-mail: mazur.m.a47@gmail.com.

Chebanov V. A. – PhD, Professor, Corresponding Member of NAS of Ukraine, First Deputy General Director of State Scientific Institution "Institute for Single Crystals" NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine, e-mail: chebanov@isc.kh.ua, ORCID: 0000-0001-7564-778X.