

**ФАРМАКОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДОЗОЗАВИСИМОСТИ
ЭФФЕКТОВ АНТИПСИХОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ У КРЫС**

© 2023 г. Ю. И. Сысоев^{1, 2, 3, 4, 5, *}, Д. Д. Шиц¹, М. М. Пучик¹, И. С. Князева⁴,
М. С. Корелов⁴, В. А. Приходько^{1, 4}, И. А. Титович¹,
Н. О. Селизарова¹, С. В. Оковитый^{1, 4}

¹Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

³Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

⁴Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁵Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия

*E-mail: susoyev92@mail.ru

Поступила в редакцию 01.07.2023 г.

После доработки 31.07.2023 г.

Принята к публикации 02.10.2023 г.

Фармакоэнцефалография (фармако-ЭЭГ) представляет большой интерес как инструмент фармакологического скрининга новых психоактивных молекул. Этот экспериментальный подход не остался рудиментом нейробиологических исследований и может быть успешно использован для решения поставленных задач в настоящее время. Развитие и повсеместное применение методов машинного обучения открывает новые возможности использования данных фармако-ЭЭГ для решения задач классификации и прогнозирования. Ранее было показано, что наивный байесовский классификатор в комбинации с методом главных компонент может быть использован как для отличия антипсихотического действия лекарственных препаратов от седативного, так и для сравнения эффектов антипсихотических средств между собой. В настоящем исследовании была проведена оценка возможности выявления дозозависимости эффектов изучаемых препаратов с использованием предложенного метода. Эксперименты выполняли на белых беспородных крысах-самцах с хронически имплантированными электрокортикографическими электродами. В качестве изучаемых препаратов были выбраны два средства с антипсихотическим действием – хлорпромазин и прометазин в трёх дозах (0.1, 1, 10 мг/кг и 0.5, 5 и 20 мг/кг соответственно). Обучающей выборкой, относительно которой в ходе работы определяли фармакологические эффекты исследуемых средств, были блокатор дофаминовых D₂-рецепторов галоперидол, М-холиноблокатор тропикамид, H₁-гистаминоблокатор хлоропирамин, а также седативный препарат дексмететомидин и анксиолитик феназепам. В результате проведенной работы было показано, что низкая доза хлорпромазина (0.1 мг/кг) может быть охарактеризована как антипсихотическая с выраженным гистаминолитическим эффектом, в то время как наиболее высокая (10 мг/кг) демонстрирует преимущественно антипсихотическое действие с каталептогенным эффектом. Все три дозы хлорпромазина обнаруживали холинолитическое действие, которое усиливалось по мере увеличения дозы. Для прометазина был выявлен четкий дозозависимый переход от антипсихотического действия к каталептогенному, а также выраженный М-холиноблокирующий эффект во всех вводимых дозах. Ни одна из доз прометазина не продемонстрировала сходство с хлоропирамином, это, вероятно, свидетельствует о том, что дофаминоблокирую-

щее и холинолитические эффекты препарата могут маскировать его H_1 -гистаминоблокирующее действие на электрокортикограмме у крыс. Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что наивный байесовский классификатор в комбинации с методом главных компонент может быть использован для выявления дозозависимости эффектов антипсихотических препаратов по их влиянию на параметры электрокортикограмм. Дальнейшее развитие метода, а также увеличение используемой библиотеки записей эффектов психотропных препаратов может позволить более точно осуществлять прогнозирование фармакологической активности изучаемых веществ.

Ключевые слова: наивный байесовский классификатор, машинное обучение, фармакоэлектроэнцефалография, электрокортикография, антипсихотические средства, хлорпромазин, прометазин

DOI: 10.31857/S0869813923110110, **EDN:** XPKRKY

ВВЕДЕНИЕ

Идея фармакоэнцефалографии (фармако-ЭЭГ) как экспериментального метода исследования базируется на способности фармакологических агентов, оказывающих влияние на работу центральной нервной системы, вызывать специфические изменения параметров биоэлектрической активности головного мозга. В клинической практике этот метод используется главным образом для оценки эффективности проводимой у пациентов фармакотерапии, например, при эпилепсии [1] или шизофрении [2]. В исследованиях на мелких лабораторных животных фармако-ЭЭГ может быть использована как инструмент фармакологического скрининга для средств с ранее неизвестной активностью [3] или углубленного изучения эффектов известных психотропных препаратов [4, 5].

Ранее был предложен новый экспериментальный подход для выявления специфической активности и сравнения фармакологического профиля антипсихотических средств с использованием наивного байесовского классификатора (НБК) — алгоритма машинного обучения, достаточно широко применяемого в биологических и медицинских исследованиях. В рамках этого исследования была собрана библиотека электрокортикограмм (ЭКоГ) крыс, записанных после введения антипсихотических средств (хлорпромазина, галоперидола, дроперидола, тиоприда и сульпирида), которую использовали как обучающую выборку. Для каждой записи были рассчитаны соотношения значений амплитудно-спектральных характеристик ЭКоГ после инъекции препаратов к соответствующим исходным значениям до введения. Применение НБК позволило выявить специфическое влияние антипсихотических средств на параметры биоэлектрической активности коры головного мозга крыс, дифференцируя их от физиологического раствора (контроля), а также анксиолитика с седативным действием феназепама. Более того, было отмечено сходство эффектов антипсихотиков, близких по химическому строению: производных бутирофенона — галоперидола и дроперидола, а также замещенных бензамидов — тиоприда и сульпирида [6].

Характерной особенностью большинства психотропных препаратов является широкий спектр их рецепторного действия. Например, антипсихотические средства — производные фенотиазина имеют выраженное М-холино- и H_1 -гистаминоблокирующее действие, что может обуславливать их седативный эффект и ряд других центральных и периферических побочных реакций. Каждый из эффектов препаратов данной группы имеет свой диапазон доз и, несомненно, уникальные особенности влияния на ЭКоГ у крыс. Для дальнейшего развития предложенного ранее подхода как инструмента фармакологического скрининга необходимо пополнение обучающей выборки записями эффектов известных препаратов в разных дозах.

Целью данной работы стала валидация предложенного ранее метода для оценки дозозависимости эффектов двух препаратов, обладающих антипсихотическим действием – хлорпромазина и прометазина. Особое внимание было сфокусировано на возможности выявления антипсихотического, каталептогенного, М-холиноблолирующего, Н₁-гистаминоблолирующего, седативного или снотворного действия двух изучаемых препаратов в трех разных дозах.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты с использованием лабораторных животных были выполнены в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета от 22 сентября 2010 г., принципами Базельской декларации и требованиями Совета Евразийского экономического союза от 03.11.2016 г. № 81 “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств”. Протокол эксперимента был утвержден биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (протокол-заявка R-PEEG2-SA-2022 от 15.02.2022). Были предприняты все меры для уменьшения числа используемых животных и минимизации их страданий.

Исследование выполнено на крысах-самцах стока Wistar в возрасте 3 месяцев и массой 250–300 г, полученных из ФГУП НИЦ “Курчатовский институт” – питомник лабораторных животных “Рапполово” (Ленинградская область, Россия). Крыс содержали по 5 особей в клетке при температуре в помещении 20–22°C и световом режиме 12 ч свет 750 лк/12 ч темнота. Все животные получали стандартный пищевой рацион (сухой полнорационный гранулированный экструдированный комбикорм рецепт ПК-120, ООО “ЛАБОРАТОРКОРМ”, Россия) и имели свободный доступ к пище и воде. Перед началом экспериментов все крысы прошли карантин в течение 14 суток.

Кортикографические электроды изготавливали из нихромовой проволоки диаметром 0.5 мм (для регистрирующих и референтного электродов) и диаметром 0.16 мм – для заземляющего электрода. Изоляцию осуществляли термоусадочной трубкой (1.5/0.5 мм); длина регистрирующей (неизолированной) части составляла ~1 мм. Все электроды объединяли в гнездо на кабель BLS-8 (Connfly Electronic Co. Ltd., КНР) с шагом 2.54 мм.

Этапы имплантации электродов и процедуры послеоперационного ухода за животными были подробно описаны в ранее опубликованной работе [7]. Для наркотизации животных использовали тилетамин/золазепам 50 (Золетил, Virbac, Франция; 10 мг/кг, внутримышечно). Электроды FP1 и FP2 располагали в области первичной двигательной коры (AP = 0.0, ML = 2.5, DV = 1.0), C3 и C4 – первичной соматосенсорной коры над гиппокампом (AP = –4.0, ML = 2.5, DV = 1.0), O1 и O2 – вторичной зрительной коры (AP = –7.0, ML = 2.5, DV = 1.0). Референтный электрод имплантировали в носовую кость, заземляющий – под кожу в области шеи.

Прооперированных крыс содержали в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и корму в течение всего периода исследования. Состояние животных оценивали сразу после выхода из наркоза и далее ежедневно утром и вечером; по необходимости обрабатывали швы раствором йода. Для профилактики возникновения инфекции сразу после операции животным вводили “Бициллин-3” (ОАО “Синтез”, Россия; 5000 ЕД/кг, подкожно), для снятия послеоперационной боли – кетопрофен (ООО “Велфарм”, Россия; 2.5 мг/кг, подкожно 1 раз в день в течение 3 дней). Во избежание обезвоживания крысам вводили подкожно 0.9%-ный раствор натрия хлорида (ООО “Гротекс”, Россия; 5 мл 1 раз в день) в течение первых 3 дней после операции.

Запись ЭКоГ у животных осуществляли не ранее чем через 7 дней после операции с помощью 8-канального энцефалографа Нейрон-Спектр-1 (Нейрософт, Россия) с полосой пропускания 0.5–35 Гц и частотой квантования 500 Гц. Регистрацию сигнала проводили одновременно с видеорегистрацией поведения в условиях домашней клетки при искусственном освещении. Длительность записи составляла 1 ч и включала в себя 30 мин фоновой активности (до введения препарата или физиологического раствора) и 30 мин после инъекции. Для дальнейшего анализа брали два 60-секундных участка записи: непосредственно перед введением и спустя 20 мин после. Выбранные фрагменты содержали записи ЭКоГ в спокойном бодрствующем состоянии, так как ранее было показано, что двигательная активность (локомоция, стойки, груминг или скрэтчинг) могут в значительной мере затруднять выявление и различие эффектов препаратов на биоэлектрическую активность головного мозга у крыс [8].

Все используемые препараты вводили внутривенно, при необходимости предварительно растворив в физиологическом растворе до нужной концентрации. Препаратами сравнения, относительно которых в ходе работы определяли фармакологические эффекты изучаемых антипсихотических средств, были галоперидол, тропикамид, хлоропирамин, дексмететомидин и феназепам. Галоперидол (ООО “Велфарм”, Россия) вводили в дозах 0.3 и 2 мг/кг. Первая доза была выбрана в качестве “классической антипсихотической”, блокирующей эффекты дофаминомиметиков апоморфина и квинпиrolа, а также агониста 5-НТ_{1В}-серотониновых рецепторов RU24969, вызывающих гиперлокомоцию и стереотипию у крыс [9]. Доза галоперидола 2 мг/кг вызывает у крыс обратимую каталепсию [10], что позволило использовать ее в данном исследовании как маркер ранних экстрапиримидных нарушений, характерных в большей степени для типичных нейролептиков. Кроме того, галоперидол обладает достаточно высокой селективностью по отношению к дофаминовым D₂-рецепторам по сравнению с серотониновыми 5НТ_{2А}-, гистаминовыми Н₁-, а также М-холинорецепторами ($K_i = 36$ нМ, 1890 нМ и >20000 нМ соответственно) [11]. Данная избирательность объясняет его выраженное антипсихотическое действие при минимуме седации и аргументирует рациональность использования как эталонного антипсихотика.

Тропикамид (Tocris Bioscience, Великобритания), используемый как маркер М-холиноблокирующего (атропиноподобного) действия вводили в трех дозах: 0.5, 5 и 30 мг/кг [12]. Блокатор Н₁-гистаминовых рецепторов хлоропирамин (ЗАО “Фармацевтический завод ЭГИС”, Венгрия) использовали только в одной дозе – 20 мг/кг – ввиду того, что более низкие дозы не оказывали выраженного действия на параметры ЭКоГ у крыс, а более высокие могут инициировать судорожную активность [13]. α_2 -адреномиметик дексмететомидин и аллостерический модулятор ГАМК_А-рецепторов феназепам вводили в качестве референтных препаратов с заметным седативным действием, поскольку такое действие описано для многих антипсихотических средств в качестве побочного эффекта. Дексмететомидин использовали в дозах 0.005 и 0.1 мг/кг (умеренная и сильная седация соответственно [14]), а феназепам – 0.1 и 1 мг/кг (седация и снотворное действие соответственно [15, 16]). Несмотря на то, что и для дексмететомидина, и для феназепама характерно выраженное седативное действие, их особенности влияния на параметры ЭКоГ у крыс четко различаются. Кроме того, особенностью высоких доз феназепама является снотворное действие, не характерное для дексмететомидина [16, 17].

Хлорпромазин (АО “Валента Фарм”, Россия) вводили в дозах 0.1, 1 и 10 мг/кг, прометазин (ЗАО “Фармацевтический завод ЭГИС”, Венгрия) – 0.5, 5 и 20 мг/кг. Дозы обоих препаратов были выбраны на основании литературных данных [18, 19]

с корректировкой после собственных предыдущих исследований [6, 20]. Для дополнительной валидации полученных результатов были протестированы записи с введением дроперидола (0.3 мг/кг, ФГУП “Московский эндокринный завод”, Россия), тиаприда (30 мг/кг, АО “Органика”, Россия) и сульпирида (30 мг/кг, АО “Органика”, Россия), полученные в предыдущей работе [6]. В качестве контроля вводили 0.9%-ный раствор натрия хлорида (ООО “Гротекс”, Россия) в объеме 0.5 мл.

Для каждого препарата было сделано 5–10 записей у разных животных. Введение нового препарата осуществляли не ранее чем через 3 дня после предыдущей записи для исключения взаимодействия и остаточных эффектов. Частота тестирования той или иной крысы определялась сохранностью хэдплага (коннектора с электродами), а также общим состоянием животного. В случае признаков инфекционного заболевания вводили повторно “Бициллин-3” (ОАО “Синтез”, Россия; 5000 ЕД/кг, внутримышечно) и следующее тестирование проводили не ранее чем через неделю после инъекции.

Анализ полученных записей осуществляли с помощью программы Нейрон-Спектр.NETOmega 1.6.10.8 (ООО “Нейрософт”, Россия). Для всех 6 отведений (FP1, FP2, C3, C4, O1 и O2) рассчитывали в общей сложности 132 амплитудно-спектральные характеристики ЭКоГ, включавших в себя среднюю и максимальную амплитуды сигнала, среднеквадратичное отклонение и степень сжатия по Лемпел-Зив, средние амплитуды ритмов волн, индексы и средние мощности ритмов. Из сигнала выделяли δ - (0.5–4.0 Гц), θ - (4.0–8.0 Гц), α - (8.0–14.0 Гц) и β -ритмы (низкочастотные (НЧ) – 14.0–20.0 Гц и высокочастотные (ВЧ) – 20.0–35.0 Гц). Данные выражали как соотношения значения параметров после введения препарата к значениям соответствующих параметров до введения (рис. 1).

Обработку и последующий анализ полученных данных осуществляли с помощью надстройки для MS Excel XLSTAT 2016.02.28451 и модуля sklearn v1.1.2. Уменьшение размерности данных проводили с помощью метода главных компонент (МГК), и далее на основе выделенных главных компонент обучали модель НБК. В качестве обучающей выборки были использованы данные записей эффектов галоперидола, тропикамида, хлоропирамина, дексмететомидина и феназепам.

Оценка качества модели НБК на обучающей выборке проводилась с помощью 10-кратного повторения рандомизированной перекрестной проверки со стратификацией по группам на 5 фолдов, функция `RepeatedStratifiedKFold(n_splits=5, n_repeats=10)` в sklearn. В этом случае вся обучающая выборка делится случайно на 5 блоков с сохранением пропорций каждого препарата в группе, затем проводится обучение на каждом из 4 блоков и проверка качества на пятом, далее процедура повторяется 10 раз. Такой подход позволяет получить устойчивую оценку качества, не зависящую от конкретного разбиения. Качество оценивалось как общий процент правильно классифицированных препаратов и с помощью матрицы сопряженности для результатов классификации относительно правильных ответов, для детализации ошибок классификации. Затем модель оценивалась на всей обучающей выборке, и с помощью нее прогнозировалась фармакологическая активность экспериментальных препаратов. Для визуализации различий в распределении главных компонент для вводимых препаратов была использована диаграмма рассеяния для первых четырех главных компонент. Также для первых четырех главных компонент были проведены формальные тесты на различия изучаемых препаратов относительно физиологического раствора. Первая компонента была выбрана как содержащая большую часть изменчивости в данных и наиболее информативная с точки зрения различий. При обучении классификатора использовались также 4 компоненты.

Достоверность различий между группами на рис. 4 при сравнении двух групп оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента (при нормальном распределении и

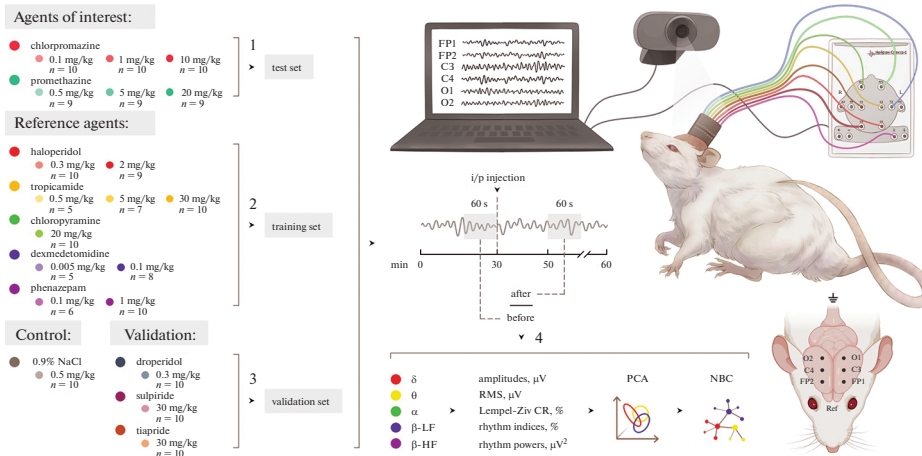


Рис. 1. Этапы эксперимента. (1) – тестовая выборка: хлорпромазин и прометазин в трёх дозах. (2) – обучающая выборка: галоперидол, тропикамид, хлоропирамин, дексмететомидин и феназепам. (3) – препараты для дополнительной валидации: дроперидол, сульпирид и тиаприд. (4) – имплантация электрокортикографических электродов, регистрация электрокортикограмм в условиях домашней клетки при одновременной видеорегистрации поведения и анализ выбранных участков электрокортикограмм с последующим применением метода главных компонент и наивного байесовского классификатора. I/p – внутривенно, RMS – среднеквадратичное отклонение, CR – степень сжатия, LF – низкочастотные, HF – высокочастотные, PCA – метод главных компонент, NBC – наивный байесовский классификатор, Ref – референтный электрод.

равенстве дисперсий) и критерия Манна-Уитни (при распределении, отличном от нормального/различии дисперсий). При сравнении четырех групп использовали однофакторный дисперсионный анализ с тестом по Тьюки (при нормальном распределении и равенстве дисперсий), либо критерий Краскела–Уоллиса с *post hoc* тестом по Данну (при распределении, отличном от нормального/различии дисперсий). Для проверки нормальности распределения данных использовали W-критерий Шапиро–Уилка, для оценки равенства дисперсий – тест Бартлетта.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение исследуемых препаратов приводило к изменениям амплитудно-спектральных характеристик ЭКоГ у испытуемых животных. В качестве примера приведены паттерны изменения средней мощности δ -, θ -, α - и β -ритмов во всех 6 регистрируемых отведениях (рис. 2). Стоит отметить, что не всегда увеличение дозы вводимого препарата приводило к линейному увеличению средней мощности ритмов, а также числа отведений, где таковое было зафиксировано. Например, если в дозе 1 мг/кг хлорпромазин увеличивал среднюю мощность θ -, α - и β -НЧ ритмов во фронтальных отведениях, а также мощность α - и β -НЧ ритмов в затылочных, то 10-кратное увеличение дозы препарата уже в меньшей степени оказывало влияние на отведения O1 и O2. Аналогичным образом доза прометазина 5 мг/кг в меньшей степени увеличивала активность δ -ритмов во всех областях коры головного мозга у крыс чем 0.5 мг/кг, хотя в целом характер изменений ЭКоГ под влиянием обеих доз был похожим. В большинстве случаев введение того или иного препарата приводило к увеличению средней мощности регистрируемых ритмов за исключением хлоропирамина, снижавшего активность α -, β -НЧ и β -ВЧ ритмов. Наименее выра-

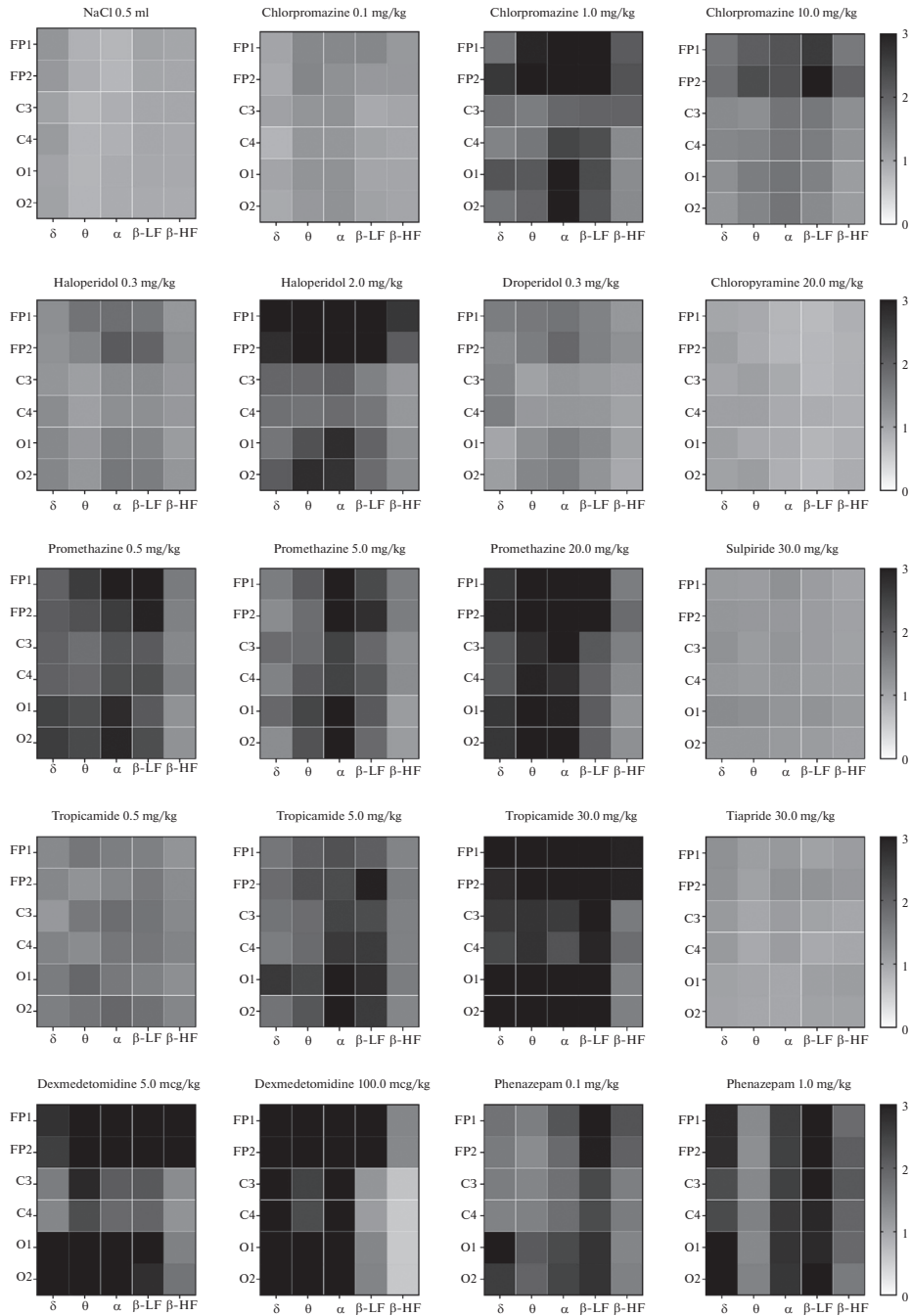


Рис. 2. Тепловые карты медианных ($n = 5-10$ для каждой группы) значений средней мощности δ -, θ -, α - и β -ритмов в отведениях FP1, FP2, C3, C4, O1 и O2 при введении препаратов. Исходными данными были отношения значений средней мощности ритмов спустя 20 мин после введения препаратов к значениям соответствующих показателей до введения (30-я минута фоновой записи).

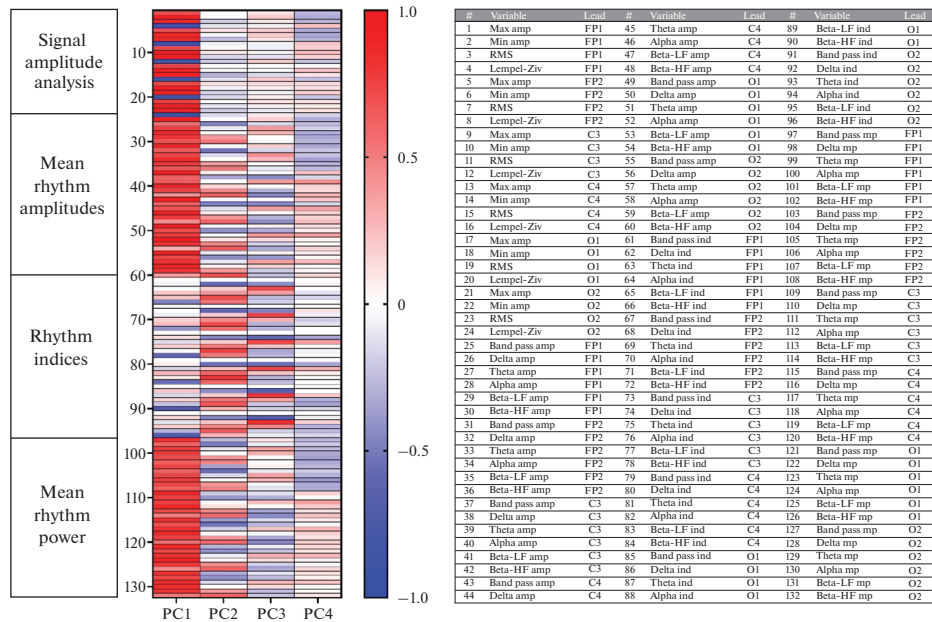


Рис. 3. Факторные нагрузки, показывающие степень вовлечения каждого из 132 анализируемых параметров в формирование компонент PC, PC2, PC3 и PC4, используемых для дальнейших вычислений с использованием наивного байесовского классификатора. Amp – амплитуда (мкВ), RMS – среднеквадратичное отклонение (мкВ), Lempel-Ziv – степень сжатия по Лемпел-Зив (%), ind – индекс ритма (%), mp – средняя мощность ритма (мкВ²).

женные эффекты на биоэлектрическую активность головного мозга у крыс оказывали хлорпирамин, сульпирид и тиаприд, однако характер их действия отличался от изменений, наблюдаемых после введения физиологического раствора (небольшое увеличение δ -активности при снижении мощности θ -ритмов).

Анализ полученных данных МГК показал, что 77.05% дисперсии могут быть описаны 4 главными компонентами (PC1-PC4), которые были использованы для дальнейшей работы. Факторные нагрузки анализируемых параметров ЭКоГ, характеризующие их вклад в формирование той или иной главной компоненты, приведены на рис. 3. Компонента PC1, описывающая 48.8% дисперсии, была образована амплитудными характеристиками сигнала (как в целом, так и отдельными ритмами), а также коррелирующими с ними значениями спектральной мощности ритмов. Все перечисленные параметры ЭКоГ влияли на значение PC1 вне зависимости от расположения регистрирующих электродов. На значение компоненты PC2 (14.1%) влияли в большей степени активность δ - и β -ритмов во всех отведениях. Величину PC3 (9.43%) практически полностью определяли индексы δ - и θ -ритмов. Компонента PC4 (4.75%) была образована преимущественно величиной средней амплитуды и мощности θ -ритма в теменных и затылочных областях коры.

При сравнении эффектов изучаемых препаратов на величину компонент PC1–PC4 было отмечено, что все они во всех вводимых дозах, за исключением хлорпромазина в дозе 0.1 мг/кг, вызывают статистически значимое увеличение первой главной компоненты по сравнению с контролем ($p < 0.05$ для тиаприда и $p < 0.01$ для хлорпромазина в дозах 1 и 10 мг/кг, прометазина в дозах 0.5, 5 и 20 мг/кг, дроперидола и сульпирида, соответственно) (рис. 4). На величину PC2 оказал влияние

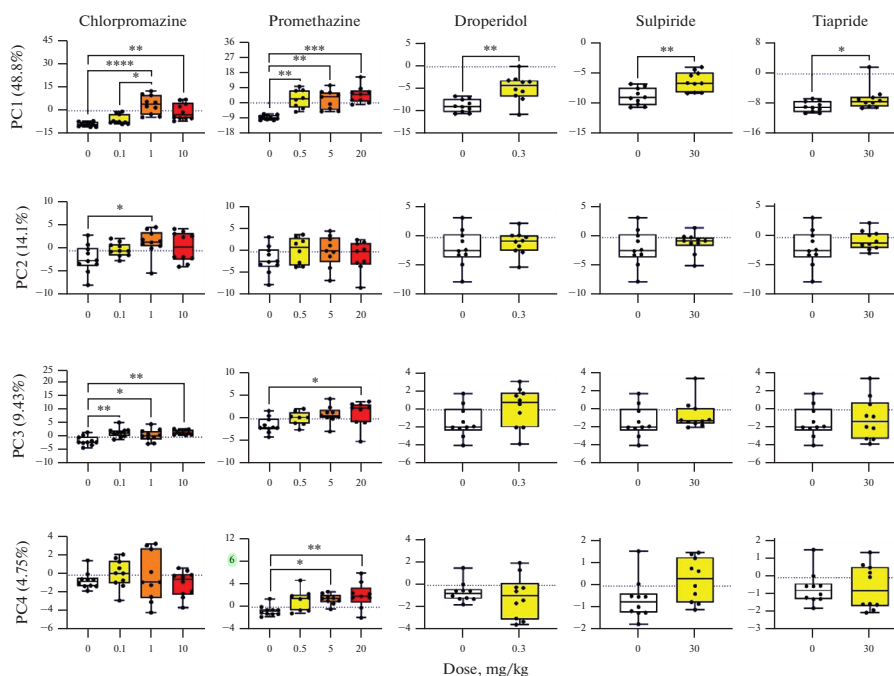


Рис. 4. Значения главных компонент PC1–PC4 в группах хлорпромазина (0.1, 1 и 10 мг/кг), прометазина (0.5, 5 и 20 мг/кг), дроперидола, сульпирида и тиаприда. В качестве контроля (белый цвет) были взяты значения главных компонент группы животных, которым вводили физиологический раствор объемом 0.5 мл. Данные представлены как медиана (минимальное значение; максимальное значение). В данном случае использовалась коррекция на множественные сравнения при сопоставлении доз внутри одной группы препаратов (хлорпромазин и прометазин), но не учитывалось одновременное тестирование четырех компонент и пяти препаратов, так как эти тесты проводили исключительно в целях визуализации для демонстрации наличия эффектов. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$.

только хлорпромазин в дозе 1 мг/кг ($p < 0.05$). Значения компоненты PC3 значимо увеличивали хлорпромазин во всех тестируемых дозах ($p < 0.05$ для дозы 1 мг/кг и $p < 0.01$ для доз 0.1 и 10 мг/кг) и прометазин в дозе 20 мг/кг ($p < 0.05$). PC4 была выше только у животных, которым вводили прометазин в дозах 5 и 20 мг/кг ($p < 0.05$ и $p < 0.01$ соответственно).

На рис. 5 приведены диаграммы рассеяния для первых четырех главных компонент на обучающей (а) и тестовой выборке (б). К тестовой выборке также был добавлен физиологический раствор, чтобы показать, что в пространстве главных компонент изучаемые препараты лежат достаточно далеко от него.

Матрица сопряженности с результатами классификации для обучающей выборки представлена на рис. 6.

Далее препараты из тестовой и валидационной выборок были спроектированы на главные компоненты из обучающей выборки, а затем для полученных данных осуществляли прогнозирование фармакологической активности анализируемых записей на основании значений главных компонент с использованием обученного НБК. Для каждой записи были рассчитаны вероятности совпадения эффектов на ЭКоГ с таковыми у препаратов, используемых в качестве обучающей выборки (галоперидол, тропикамид, хлоропирамин, дексметомидин и феназепам). Для всех тестируемых групп рассчитывали медианное значение вероятности сходства с той или

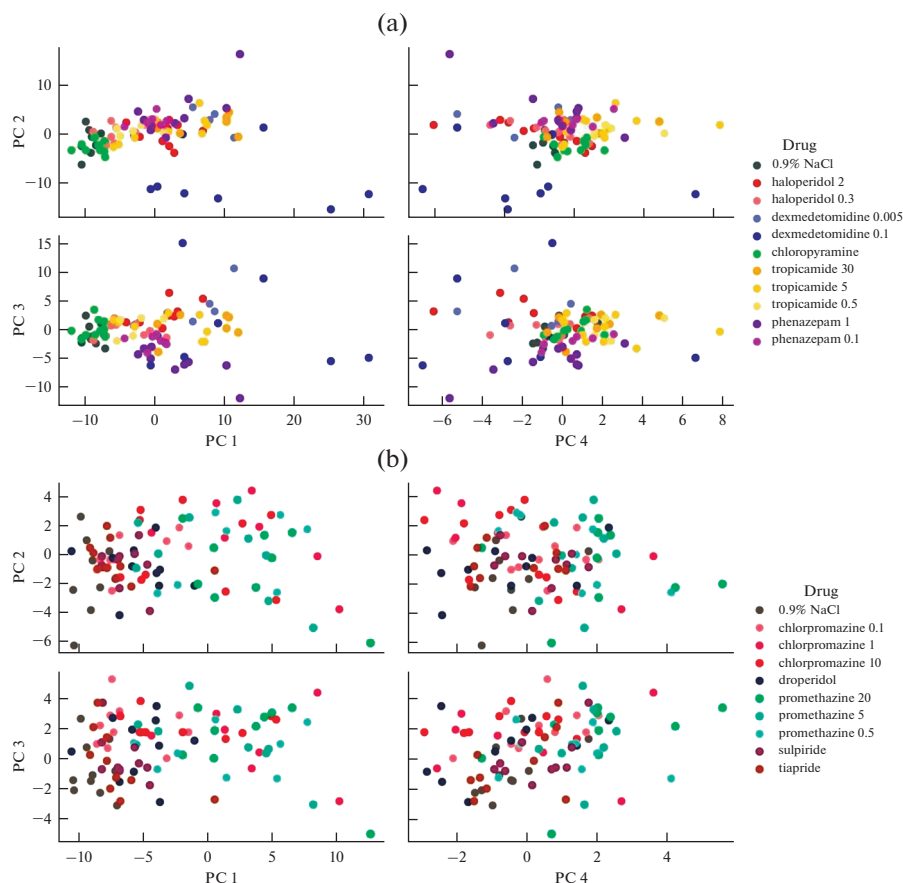


Рис. 5. Диаграмма рассеяния для первых четырех главных компонент, полученных по обучающей выборке (а) и проекция на эти компоненты тестовых препаратов (б).

иной референтной группой, на основании чего можно было сделать выводы о характере действия хлорпромазина и прометазина в той или иной тестируемой дозе (рис. 6). Для дополнительной валидации методики был осуществлен прогноз фармакологической активности для дроперидола (0.3 мг/кг), сульпирида (30 мг/кг) и тиаприда (30 мг/кг).

Установлено, что хлорпромазин в низкой дозе 0.1 мг/кг имеет наибольшее сходство с хлоропирамином и галоперидолом 0.3 мг/кг (медианные значения вероятности сходства 0.308 и 0.113 соответственно), что может говорить о преобладании у препарата в этой дозе H_1 -гистаминоблокирующего и антипсихотического эффектов. Доза 10 мг/кг продемонстрировала также сходство с антипсихотической дозой галоперидола (0.196). В то же время НБК прогнозировал выраженное “каталептогенное” действие (сходство с галоперидолом в дозе 2.0 мг/кг, медианное значение вероятности сходства – 0.206). Все три дозы хлорпромазина вызывали эффекты, похожие на действие тропикамида в дозе 5 мг/кг. При этом прослеживалась дозозависимость такого М-холиноблокирующего действия (0.049, 0.085 и 0.101 для доз 0.1, 1 и 10 мг/кг соответственно). Также для средней и высокой доз хлорпромазина

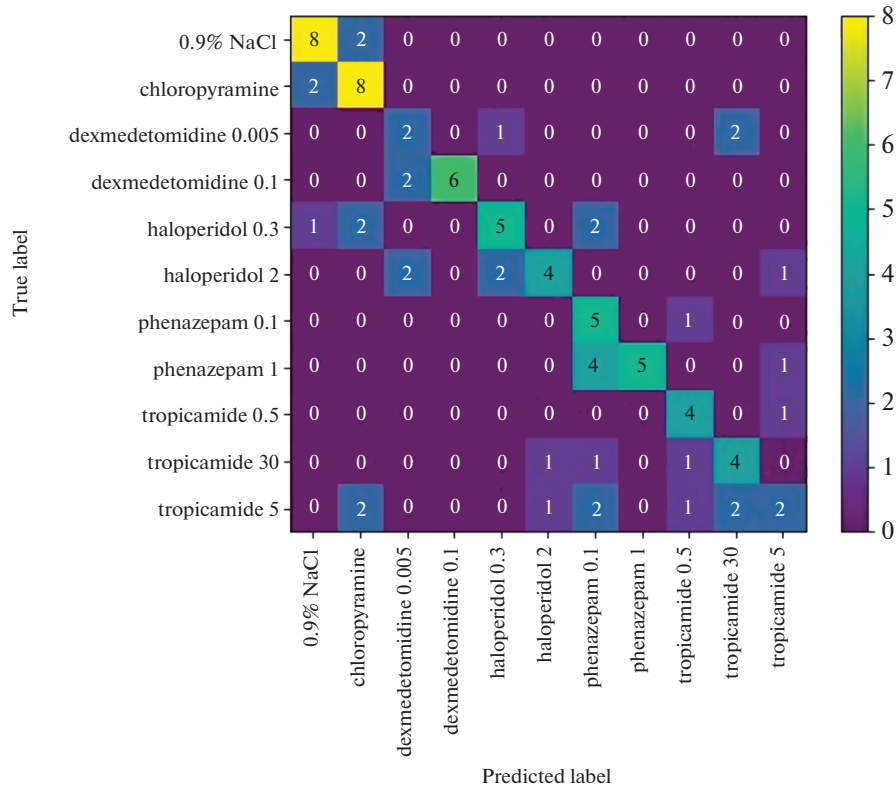


Рис. 6. Результаты классификации наивным байесовским классификатором обучающей выборки.

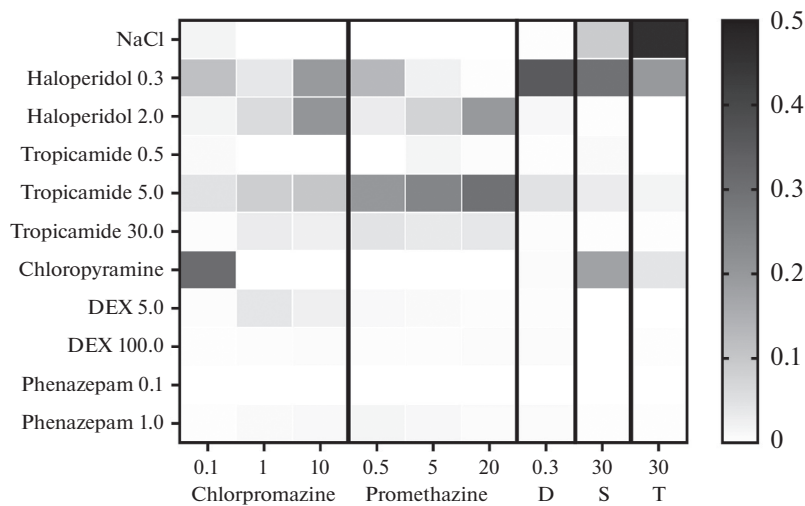


Рис. 7. Тепловая карта медианных значений вероятности сходства фармакологической активности хлорпромазина (0.1, 1 и 10 мг/кг), прометазина (0.5, 5 и 20 мг/кг), дроперидола (D), сульпирида (S) и тиаприда (T) с препаратами из обучающей выборки (вертикальная ось), полученных с использованием наивного байесовского классификатора. DEX – дексмететомидин.

прогнозировалось некоторое сходство с дексмететомидином в дозе 5 мг/кг (0.041 и 0.024 соответственно), что может говорить об их умеренном седативном действии.

Прометазин во всех вводимых дозах НБК определял в первую очередь как М-холиноблокатор (медианное значение вероятности сходства с тропикамидом 5 мг/кг – 0.201, 0.247 и 0.295 для доз 0.5, 5 и 20 мг/кг соответственно). Также для этого препарата была выявлена четкая прогнозируемая дозозависимость перехода от антипсихотического действия к каталептогенному (сходство с галоперидолом 0.3 мг/кг 0.131, 0.020 и 0.001, а с галоперидолом 2 мг/кг – 0.031, 0.075 и 0.198 для доз 0.5, 5 и 20 мг/кг соответственно). Интересно, что для прометазина предлагаемый подход не позволил обнаружить сколько-нибудь выраженного H_1 -гистаминолокирующего действия в любой из изучаемых доз.

Дроперидол в единственной тестируемой дозе был определен как “антипсихотическое” средство (сходство с галоперидолом 0.3 мг/кг 0.353) со слабым “М-холиноблокирующим” эффектом (сходство с тропикамидом 5 мг/кг 0.047). Сульпирид и тиаприд были отнесены к “антипсихотикам” со слабым или умеренным H_1 -гистаминоблокирующим действием. Однако стоит отметить, что для обоих препаратов было показано достаточно высокое сходство с контрольной группой, которой вводили физиологический раствор (0.091 и 0.459 для сульпирида и тиаприда соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее было показано, что НБК в комбинации с МГК может быть использован для сравнения эффектов антипсихотических средств, а также их отличий от бензодиазепинового транквилизатора феназепам, обладающего седативной активностью [6]. Тем не менее, общеизвестно, что нейролептики в зависимости от вводимой дозы могут демонстрировать разный фармакологический эффект. Во многом это связано с неизбирательностью рецепторного действия данных лекарственных средств. Для большинства из них наиболее частыми второстепенными фармакологическими мишенями являются М-холинорецепторы, H_1 -гистаминовые рецепторы, α -адренорецепторы и различные подтипы серотониновых рецепторов [11]. В связи с этим одним из ключевых этапов развития предлагаемого подхода как инструмента фармакологического скрининга является запись эффектов референтных препаратов в разных диапазонах доз. Несмотря на очевидность данного утверждения, в работах других авторов [21, 22], использующих фармако-ЭЭГ для скрининга и классификации психопрепаратов, не было сделано акцента на дозозависимости регистрируемых эффектов.

В настоящем исследовании была оценена чувствительность используемого алгоритма прогнозирования фармакологической активности к вышеупомянутой дозозависимости эффектов двух выбранных нейролептиков – хлорпромазина и прометазина. В качестве референтных препаратов были выбраны средства с наиболее классическими фармакологическими эффектами, а именно антипсихотическим и каталептогенным (галоперидол), атропиноподобным (тропикамид), H_1 -гистаминоблокирующим (хлоропирамин) и седативным/снотворным действием (дексмететомидин и феназепам). Стоит принимать во внимание, что все выбранные препараты не являются селективными по отношению к своим главным фармакологическим мишеням: например, галоперидол способен блокировать серотониновые $5HT_{2A}$ -рецепторы [11], а хлоропирамин, являясь представителем H_1 -гистаминоблокаторов 1-го поколения, не лишен М-холиноблокирующего действия [23]. В дальнейшем возможным решением данной проблемы может быть использование селективных агонистов/антагонистов интересующих молекулярных мишеней, например, блокаторов D_2 -рецепторов раклоприда, L-741626 и др. Однако, как пра-

вило, для таких молекул нет данных о клинических эффектах и фармакокинетике; кроме того, со временем, при детальном изучении фармакодинамики того или иного лиганда обнаруживаются новые фармакологические мишени, и он перестает считаться селективным. Наиболее перспективным представляется последовательное использование двух обучающих выборок, “от эффекта” и “от рецептора”, однако такой подход требует экспериментальной валидации.

С помощью НБК было выявлено, что хлорпромазин в низкой дозе 0.1 мг/кг обладает антипсихотическим и H_1 -гистаминоблокирующим действием, в дозе 1 мг/кг – антипсихотическим, а в дозе 10 мг/кг становится заметным каталептогенный эффект (рис. 5). В ранее опубликованной работе других авторов [24] показано, что хлорпромазин в дозах 0.1, 1 и 5 мг/кг способен снижать эмоциональную гипертермию у крыс в тесте “резидент-интродер” (статистически значимо для дозы 5 мг/кг и на уровне тенденции – для доз 0.1 и 1 мг/кг). Данный тест является чувствительным к действию ряда нейролептиков и рассматривается как перспективный для оценки антипсихотического эффекта. Согласно данным Rebec и соавт., умеренное каталептогенное действие у крыс хлорпромазин оказывает в дозах 5 и 10 мг/кг [25]. Таким образом, спрогнозированная в настоящей работе дозозависимость антипсихотического и каталептогенного действия хлорпромазина согласуется с литературными данными.

На основании литературных данных не представляется возможным сопоставить спрогнозированную дозозависимость М-холиноблокирующего и H_1 -гистаминоблокирующего действия хлорпромазина. Тем не менее, не вызывает сомнения, что эти эффекты должны возрастать с увеличением дозы вводимого антипсихотика. В данном исследовании только одна, низкая доза хлорпромазина была оценена как “гистаминоблокирующая”, в то время как “атропиноподобное” действие увеличивалось от дозы 0.1 ~~мг/кг~~ к дозе 10 мг/кг. Наиболее вероятным объяснением данному феномену может быть то, что выраженное М-холиноблокирующее действие маскирует H_1 -гистаминоблокирующее на ЭКоГ у крыс. На рис. 2 наглядно видно, насколько слабо выражены эффекты хлоропирамина даже в достаточно высокой вводимой дозе (20 мг/кг) в сравнении с тремя дозами тропикамида. Также в пользу маскировки H_1 -гистаминоблокирующего действия М-холиноблокирующим говорят результаты, полученные для 3 доз прометазина (рис. 5).

Прометазин в настоящее время используется как противорвотное и противоаллергическое средство, а также для премедикации ввиду способности потенцировать наркоз и вызывать искусственную гипернацию. Являясь производным фенотиазина и обладая дофаминолитическим действием, данный препарат серьезно рассматривали в 50-60-е годы как антипсихотическое средство, однако проведенное в 1960 г. двойное слепое плацебо-контролируемое исследование показало большую эффективность другого производного фенотиазина, хлорпромазина, при терапии шизофрении [26]. В связи с этим, а также в связи с появлением в то же время производных бутирофенона (а позднее еще и нейролептиков второго и третьего поколения) [27], интерес к прометазину как антипсихотическому средству окончательно угаснет. В настоящей работе этот препарат не рассматривается как недооцененный нейролептик, а служит лишь как средство валидации предлагаемой методики. Как и для хлорпромазина, для прометазина был продемонстрирован дозозависимый переход от “антипсихотического” действия к “каталептогенному” (рис. 5), что характерно для типичных нейролептиков. Заведомо зная, что хлорпромазин является более сильным нейролептиком, чем прометазин, можно сделать вывод, что рассчитанное медианное значение вероятности сходства с галоперидолом в дозе 0.3 мг/кг не является количественной характеристикой силы антипсихотического эффекта, которую можно сравнивать между разными изучаемы-

Таблица 1. Значения констант ингибирования (K_i , нМ), отражающие аффинитет хлорпромазина, прометазина, дроперидола, тиаприда и сульпирида к различным рецепторам

Препарат	D ₂ -ДР	М-ХР	H ₁ -ГР
Хлорпромазин	11.0 [28] 19.0 [11]	1.5 [28] 60.0 [11]	25.0 [28] 9.1 [11]
Прометазин	260.0 [29]	3.32 (M ₁) 12.0 (M ₂) 4.15 (M ₃) 1.06 (M ₄) 3.31 (M ₅) [29]	0.24 [30] 0.33 [29]
Дроперидол	0.25 [31] 0.8 [32]	537.0 (M ₄) 1651.0 (M ₅) [32]	525.0 [32]
Сульпирид	8.2 [33] 13.0 [28]	>1300 [28]	>80000 [28]
Тиаприд	226.0 [33]	NA	NA

ДР – дофаминовый рецептор, ХР – холинорецептор, ГР – гистаминовый рецептор, NA – нет данных.

ми препаратами. Тем не менее, для всех доз прометазина (особенно для 5 и 20 мг/кг) было показано выраженное преобладание “М-холиноблокирующего” действия над “антипсихотическим” (или даже “каталептогенным”), это косвенно говорит о том, что изучаемый препарат в первую очередь – М-холиноблокатор, и только в некоторой степени – антагонист дофаминовых D₂-рецепторов. Данное наблюдение полностью согласуется с ранее опубликованными значениями констант ингибирования (K_i , нМ), отражающими аффинитет к дофаминовым и М-холинорецепторам (табл. 1).

Дроперидол был определен как “классический” антипсихотик со слабовыраженным атропиноподобным эффектом. Как и в случае прометазина, полученные данные согласуются со значениями K_i для D₂-дофаминовых и М-холинорецепторов (табл. 1). Атипичные нейролептики сульпирид и тиаприд, с одной стороны, были отнесены НБК к антипсихотикам, с другой стороны, было продемонстрировано их высокое сходство с физиологическим раствором и блокатором H₁-гистаминовых рецепторов хлоропираминном. Сходство с галоперидолом в дозе 0.3 мг/кг является ожидаемым и в очередной раз демонстрирует чувствительность предложенного метода для выявления антипсихотического действия. Тем не менее, два других прогноза могут вызывать некоторые вопросы к правильности работы алгоритма. С одной стороны, сходство с физиологическим раствором и хлоропираминном может быть вызвано тем, что оба атипичных нейролептика и антагонист H₁-гистаминовых рецепторов вызывали слабые изменения ЭКоГ у крыс, в связи с чем любые препараты, которые мало влияют на кору головного мозга, будут рассматриваться как похожие друг на друга или на контрольную группу. Данное утверждение не лишено справедливости, принимая во внимание тот факт, что хлорпромазин в дозе 0.1 мг/кг все же имел некоторое сходство с NaCl (рис. 5). С другой стороны, эта же низкая доза хлорпромазина была четко определена как “гистаминоблокирующая” и “антипсихотическая”. Возможным решением данной проблемы в дальнейшем может быть использование других блокаторов H₁-гистаминовых рецепторов, которые будут лучше проникать через гематоэнцефалический барьер, обладать большим аффинитетом к интересующим рецепторам и благодаря этому будут в большей степени изменять амплитудно-спектральные характеристики ЭКоГ. В рамках данной работы были также сделаны записи эффектов дифенгидрамина в

дозе 20 мг/кг (данные не представлены), однако эффекты этого препарата не были более выраженными, чем таковые хлоропирамина.

Слабые ЭКоГ-эффекты некоторых препаратов может быть серьезной проблемой для решения дальнейших задач прогнозирования с использованием предложенного метода. Применение различных вариаций комбинаций алгоритмов уменьшения размерности (PCA, LDA и др.) и методов машинного обучения (НБК, KNN, SVM и др.), вероятно, позволит более эффективно разделить такие препараты между собой. Также необходимо отметить, что настоящее исследование было выполнено на здоровых животных, но в условиях патологии эффекты препаратов могут не только становиться более выраженными, но и меняться. В связи с этим представляет интерес проведение фармако-ЭЭГ исследований на экспериментальных моделях (генетических, фармакологических и др.) заболеваний ЦНС.

Другим возможным подходом (не исключающим первые два варианта) может быть использование глубинных электродов для записи эффектов препаратов на биоэлектрическую активность головного мозга у крыс. Например, Dimpfel в своих работах использовал сигналы, записанные не только с коры головного мозга, но также и со стриатума, гиппокампа и ретикулярной формации [4, 5]. Однако такой подход требует уже большего времени изготовления электродов, длительности процедуры хирургической имплантации, а также дополнительной гистологической валидации расположения электродов после выведения животных из эксперимента, что не позволяет его рассматривать как инструмент быстрого и простого фармакологического скрининга.

Отдельного внимания заслуживает прогнозирование сходства изучаемых препаратов с дексметомидином и феназепамом. Как было сказано ранее, оба препарата обладают седативным действием, тем не менее, вызываемая седация является разной как с точки зрения механизмов действия, так и по характеру влияния на ЭКоГ у крыс. В большей степени седативное действие, вызываемое типичными нейрелептиками, принято ассоциировать с блокадой H_1 -гистаминовых рецепторов [11, 34]. В связи с этим представляется логичным, что рассматриваемые в настоящей работе антипсихотические средства демонстрировали очень слабое сходство с α_2 -адреномиметиком дексметомидином и модулятором ГАМК_A-рецепторов феназепамом. С другой стороны, оба препарата все же обладают некоторой тропностью к α_2 -адренорецепторам. Хлорпромазин в высоких дозах (1 и 10 мг/кг) продемонстрировал сходство с дексметомидином в дозе 5 мг/кг, а прометазин – практически нет (K_i хлорпромазина для α_2 -адренорецепторов по литературным данным составляет 750 нМ, а для прометазина, в зависимости от подтипа рецепторов – 256, 34, 353 нМ, для А-, В- и С-подтипов соответственно). Вероятно, в данном случае большую роль играет соотношение K_i рецепторов внутри одного конкретного лиганда, и в случае прометазина его α_2 -адреноблокирующее действие, как и H_1 -гистаминоблокирующее, может перекрываться атропиноподобным.

Подводя итоги, можно сделать вывод, что НБК в комбинации с МГК может быть использован для выявления дозозависимости эффектов антипсихотических препаратов по их влиянию на параметры ЭКоГ у крыс. Предлагаемый подход позволяет оценить выраженность антипсихотического, каталептогенного, атропиноподобного (М-холиноблокирующего), H_1 -гистаминоблокирующего, седативного или снотворного действия изучаемых препаратов в разных диапазонах доз. Слабая выраженность действия некоторых психотропных препаратов (например, блокаторов H_1 -гистаминовых рецепторов, а также производных бензамида сульпирида и тиоприда) может требовать дополнительных методических подходов, в качестве которых могут быть использованы более совершенные алгоритмы классификации и прогнозирования, животные с моделями заболеваний или с глубинными электродами.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-75-01051 (создание библиотеки записей электрокортикограмм), Госпрограммы ГП-47 “Научно-технологическое развитие Российской Федерации” (2019-2030), тема 0113-2019-0006 (Ю.И.С.), в рамках проектов 93022925/94030803 Санкт-Петербургского государственного университета (Ю.И.С.) и № 075-10-2021-093 (Проект NRB-RND-2115, Ю.И.С.) при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, а также за счет средств государственного задания ИМЧ РАН (разработка методов математического анализа, номер гос. регистрации темы 122041500045-8).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея и планирование эксперимента (Ю.И.С., С.В.О.), проведение экспериментов и обработка данных (Ю.И.С., М.В.Ш., Д.Д.Ш., М.М.П., И.С.К., М.С.К.), подготовка иллюстраций (Ю.И.С., В.А.П., И.С.К., М.С.К.), подготовка и редакция рукописи (Ю.И.С., В.А.П., И.А.Т., Н.О.С., С.В.О.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lanzone J, Ricci L, Tombini M, Boscarino M, Mecarelli O, Pulitano P, Di Lazzaro V, Assenza G* (2021) The effect of Perampanel on EEG spectral power and connectivity in patients with focal epilepsy. *Clin Neurophysiol* 132(9): 2176–2183. <https://www.doi.org/10.1016/j.clinph.2021.05.026>
2. *Hyun J, Baik MJ, Kang UG* (2011) Effects of Psychotropic Drugs on Quantitative EEG among Patients with Schizophrenia-spectrum Disorders. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 9(2): 78–85. <https://www.doi.org/10.9758/cpn.2011.9.2.78>
3. *Nordin C, Krijzer F* (1996) Antidepressant and anxiolytic profiles of E-10-hydroxynortriptyline on electrocorticograms of rats. *Neuropsychobiology* 34(1): 44–48. <https://www.doi.org/10.1159/000119290>
4. *Dimpfel W* (2007) Characterization of atypical antipsychotic drugs by a late decrease of striatal alpha1 spectral power in the electropharmacogram of freely moving rats. *Br J Pharmacol* 152(4): 538–548. <https://www.doi.org/10.1038/sj.bjp.0707427>
5. *Dimpfel W, Hoffmann JA* (2010) Electropharmacograms of rasagiline, its metabolite aminoin-dan and selegiline in the freely moving rat. *Neuropsychobiology* 62(4): 213–220. <https://www.doi.org/10.1159/000319947>
6. *Sysoev YuI, Shits DD, Puchik MM, Prikhodko VA, Idiyatullin RD, Kotelnikova AA, Okovityi SV* (2022) Use of Naïve Bayes Classifier to Assess the Effects of Antipsychotic Agents on Brain Electrical Activity Parameters in Rats. *J Evol Biochem Physiol* 58(4): 1130–1141. <https://www.doi.org/10.1134/S0022093022040160>
7. *Sysoev YuI, Prikhodko VA, Idiyatullin RD, Chernyakov RT, Karev VE, Okovityi SV* (2022) A Method for Chronic Registration of Brain Cortical Electrical Activity in Rats. *J Evol Biochem Physiol* 58: 292–301. <https://www.doi.org/10.31857/S0869813922020091>
8. *Hansen IH, Agerskov C, Arvastson L, Bastlund JF, Sørensen HBD, Herrik KF* (2019) Pharmacoelectroencephalographic responses in the rat differ between active and inactive locomotor states. *Eur J Neurosci* 50(2): 1948–1971. <https://www.doi.org/10.1111/ejn.14373>
9. *Geyer MA, Krebs-Thomson K, Braff DL, Swerdlow NR* (2001) Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology* 156(2-3): 117–154. <https://www.doi.org/10.1007/s002130100811>
10. *Waku I, Magalhães MS, Alves CO, de Oliveira AR* (2021) Haloperidol-induced catalepsy as an animal model for parkinsonism: A systematic review of experimental studies. *Eur J Neurosci* 53(11): 3743–3767. <https://www.doi.org/10.1111/ejn.15222>

11. Gardner DM, Baldessarini RJ, Waraich P (2005) Modern antipsychotic drugs: a critical overview. *CMAJ* 172(13): 1703–1711.
<https://www.doi.org/10.1503/cmaj.1041064>
12. Bryant SM, Rhee JW, Thompson TM, Lu JJ, Aks SE (2009) Parenteral ophthalmic tropicamide or cyclopentolate protects rats from lethal organophosphate poisoning. *Am J Ther* 16(3): 231–234.
<https://www.doi.org/10.1097/MJT.0b013e318182254b>
13. Kamei C, Ohuchi M, Sugimoto Y, Okuma C (2000) Mechanism responsible for epileptogenic activity by first-generation H1-antagonists in rats. *Brain Res* 887(1): 183–186.
[https://www.doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)03041-9](https://www.doi.org/10.1016/s0006-8993(00)03041-9)
14. Hunter JC, Fontana DJ, Hedley LR, Jasper JR, Lewis R, Link RE, Secchi R, Sutton J, Eglen RM (1997) Assessment of the role of alpha2-adrenoceptor subtypes in the antinociceptive, sedative and hypothermic action of dexmedetomidine in transgenic mice. *Br J Pharmacol* 122(7): 1339–1344.
<https://www.doi.org/10.1038/sj.bjp.0701520>
15. Арушанян ЭВ, Бейер ЭВ, Каминская ОВ, Сотникова ЛК (2015) Позитивные аспекты сочетанного влияния мелатонина и феназепама на поведенческую активность крыс. *Мед вестн Северного Кавказа* 1(37): 84–88. [Arushanyan EB, Beyer EV, Kaminskaya OV, Sotnikova LK (2015) Positive aspects of the combined effect of melatonin and phenazepam on the behavioral activity of rats. *Med Herald North Caucasus* 1(37): 84–88. (In Russ)].
<https://www.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10014>
16. Кан АВ, Приходько ВА, Сысоев ЮИ, Оковитый СВ (2021) Влияние феназепама на амплитудные характеристики ритмов электрокортикограмм у крыс. *Бюлл мед науки* 4(24): 108–111. [Kan AV, Prikhodko VA, Sysoev YuI, Okovityi SV (2021) Effect of phenazepam on the amplitude characteristics of electrocorticogram rhythms in rats. *Bull Med Sci* 4(24): 108–111. (In Russ)].
<https://www.doi.org/10.31684/25418475-2021-4-108>
17. Garrity AG, Botta S, Lazar SB, Swor E, Vanini G, Baghdoyan HA, Lydic R (2015) Dexmedetomidine-induced sedation does not mimic the neurobehavioral phenotypes of sleep in Sprague Dawley rat. *Sleep* 38(1): 73–84.
<https://www.doi.org/10.5665/sleep.4328>
18. Paalzow GHM, Paalzow LK (1985) Promethazine both facilitates and inhibits nociception in rats: Effect of the testing procedure. *Psychopharmacology* 85: 31–36.
<https://www.doi.org/10.1007/BF00427318>
19. Дроздов АЛ, Демченко ЕМ, Эйяд А, Неруш ОП (2011) Влияние психотропных лекарственных средств на спонтанную поведенческую активность белых крыс. *Вісн Дніпропетров універ Біол Мед* 1(2): 47–53. [Drozdov AL, Demchenko EM, Eyad A, Nerush OP (2011) The influence of psychotropic drugs on the spontaneous behavioral activity of white rats. *Visn Dni-propetrov Univer Biol Med* 1(2): 47–53. (In Russ)].
20. Shits DD, Puchik MM, Prikhodko VA, Sysoev YuI, Okovityi SV (2022) Effects of promethazine on the amplitude and spectral characteristics of electrocorticograms in rats. *Bull Perm Univ Biol* (4): 352–356.
<https://www.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-4-352-356>
21. Krijzer F, Koopman P, Olivier B (1993) Classification of psychotropic drugs based on pharmacoelectrocorticographic studies in vigilance-controlled rats. *Neuropsychobiology* 28(3): 122–137.
<https://www.doi.org/10.1159/000119015>
22. Dimpfel W (2003) Preclinical data base of pharmaco-specific rat EEG fingerprints (tele-stereo-EEG). *Eur J Med Res* 8(5): 199–207.
23. Горячкина МВ, Белоусова ТА (2014) Хлоропирамин: клинические аспекты применения. *РМЖ Мед обзор* 22(24): 1785–1789. [Goryachkina MV, Belousova TA (2014) Chloropyramine: clinical aspects of use. *RMJ Med Review* 22(24): 1785–1789. (In Russ)].
24. Blessing WW, Blessing EM, Mohammed M, Ootsuka Y (2017) Clozapine, chlorpromazine and risperidone dose-dependently reduce emotional hyperthermia, a biological marker of salience. *Psychopharmacology (Berl)* 234(21): 3259–3269.
<https://www.doi.org/10.1007/s00213-017-4710-x>
25. Rebec GV, Gelman J, Alloway KD, Bashore TR (1983) Cataleptogenic potency of the antipsychotic drugs is inversely correlated with neuronal activity in the amygdaloid complex of the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 19(5): 759–763.
[https://www.doi.org/10.1016/0091-3057\(83\)90076-x](https://www.doi.org/10.1016/0091-3057(83)90076-x)
26. Casey JF, Bennett IF, Lindley CJ, Holister LE, Gordon MH, Springer NN (1960) Drug therapy in schizophrenia. A controlled study of the relative effectiveness of chlorpromazine, promazine, phenobarbital, and placebo. *AMA Arch Gen Psychiatry* 2: 210–220.
<https://www.doi.org/10.1001/archpsyc.1960.03590080086012>

27. Ramachandiraiah CT, Subramaniam N, Tancer M (2009) The story of antipsychotics: Past and present. *Indian J Psychiatry* 51(4): 324–326.
<https://www.doi.org/10.4103/0019-5545.58304>
28. Yonemura K, Miyanaga K, Machiyama Y (1998) Profiles of the affinity of antipsychotic drugs for neurotransmitter receptors and their clinical implication. *Kitakanto Med J* 48(2): 87–102.
<https://www.doi.org/10.2974/KMJ.48.87>
29. Promethazine. Ligand Activity Charts. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology. Режим доступа: <https://www.guidetopharmacology.org> (доступ от 29.05.2023)
30. Ghoneim OM, Legere JA, Golbraikh A, Tropsha A, Booth RG (2006) Novel ligands for the human histamine H1 receptor: synthesis, pharmacology, and comparative molecular field analysis studies of 2-dimethylamino-5-(6)-phenyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalenes. *Bioorg Med Chem*. 2006 Oct 14(19): 6640–6658.
<https://www.doi.org/10.1016/j.bmc.2006.05.077>
31. Li P, Snyder GL, Vanover KE (2016) Dopamine Targeting Drugs for the Treatment of Schizophrenia: Past, Present and Future. *Curr Top Med Chem* 16(29): 3385–3403.
<https://www.doi.org/10.2174/1568026616666160608084834>
32. Droperidol. Ligand Activity Charts. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology. Режим доступа: <https://www.guidetopharmacology.org> (доступ от 29.05.2023)
33. Donahue TJ, Hillhouse TM, Webster KA, Young R, De Oliveira EO, Porter JH (2017) Discriminative stimulus properties of the atypical antipsychotic amisulpride: comparison to its isomers and to other benzamide derivatives, antipsychotic, antidepressant, and anti-anxiety drugs in C57BL/6 mice. *Psychopharmacology (Berl)* 234(23–24): 3507–3520.
<https://www.doi.org/10.1007/s00213-017-4738-y>
34. Meltzer HY, Bobo WV (2012) Antipsychotic and anticholinergic drugs. In: *M Gelder* (ed) *New Oxford Textbook of Psychiatry* 2 ed. Oxford. Oxford Acad.

Pharmacoencephalographic Assessment of Antipsychotic Agents' Effect Dose-Dependency in Rats

Yu. I. Sysoev^{a, b, c, d, e, *}, D. D. Shits^a, M. M. Puchik^a, I. S. Knyazeva^d, M. S. Korelov^d,
V. A. Prikhodko^{a, d}, I. A. Titovich^a, N. O. Selizarova^a, and S. V. Okovityi^{a, d}

^aSaint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

^bPavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

^cInstitute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

^dBechtereva Institute of the Human Brain, St. Petersburg, Russia

^eSirius University, Sochi, Russia

*e-mail: susoyev92@mail.ru

Pharmacoencephalography (pharmacoenkephalography) (pharmacoenkephalography) is a prominent instrument for the pharmacological screening new psychoactive molecules. This experimental approach has not remained a vestige of neurobiological studies, and can be used successfully to complete today's research objectives. The development and rise to universal use of machine learning techniques opens up novel prospects for the use of pharmacoenkephalography data to solve the problems of classification and prognosis. We have previously shown that naïve Bayes classifier (NBC) combined with the principal component analysis (PCA) can be used to differentiate between antipsychotic and sedative drug effects as well as to distinguish among the antipsychotics' effects. In the present study, we evaluated the possibility to employ this method to assess the dose-dependency of antipsychotic effects. The experiments were carried out in white outbred male rats with chronically implanted electrocorticographic electrodes. As the agents of interest, we chose two drugs with antipsychotic activity, chlorpromazine and promethazine, in three doses each (0.1, 1, 10 mg/kg and 0.5, 5 and 20 mg/kg, respectively). The training set, used as a reference to determine the pharmacological effects of the agents of interest, included the D₂-dopamine receptor blocker haloperidol, M-cholinergic receptor blocker tropicamide, H₁-histamine receptor blocker chloropyramine, the sedative dexmedetomidine, and the anxiolytic phenazepam. We have shown that the lowest chlorpromazine dose (0.1 mg/kg) can be characterized as antipsychotic with a marked histaminolytic effect, while the highest one (10 mg/kg) exhibits predominantly antipsychotic activity

with a cataleptogenic effect. All the doses demonstrated anticholinergic activity, which increased with the dose. For promethazine, we observed a clear dose-dependent transition from antipsychotic action to cataleptogenic, alongside a notable antimuscarinic effect of all doses. None of promethazine doses showed any resemblance to chlorpromazine, which probably indicates its anti-dopaminergic and antimuscarinic effects being able to mask its H₁-antihistamine effect in the used dose range. In summary, our results demonstrate that NBC coupled with PCA can be used to determine the dose-dependency of antipsychotic agents' effects based on their impact on electrocorticogram parameters. Further development of this method as well as expansion of psychotropic agent electropharmacogram library would allow for more precise prognosis of pharmacological activity of the agents of interest.

Keywords: naïve Bayes classifier, machine learning, pharmacoencephalography, electrocorticography, antipsychotics, chlorpromazine, promethazine