

ИССЛЕДОВАНИЕ ПСИХОТРОПНЫХ СВОЙСТВ НОВЫХ АНАЛОГОВ ТРАНКВИЛИЗАТОРА ФОСЕНАЗИДА

Никитин Д.О.¹, Плотникова А.В.¹, Галимова Л.Ф.¹, Семина И.И.¹, Байчурина А.З.¹,
Иванова С.Ю.², Газизов М.Б.², Садыкова Р.Г.¹

¹ ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ Минздрава России», Казань, e-mail: seminai@mail.ru;

² ФГБОУ ВПО «КНИТУ», Казань

Исследована психотропная активность новых аналогов транквилизатора фосеназида, представителя гидразидов фосфорилированных карбоновых кислот. В опытах на белых мышах установлено, что все соединения обладают значительно меньшей токсичностью, чем фосеназид, и проявляют психотропные свойства, характер которых зависит от химической структуры. Соединение, у которого фосфорильный и гидразидный фрагменты связаны между собой непосредственно (С-2), оказывает угнетающее действие в «открытом поле» и анксиолитическое действие на модели «конфликтной ситуации», но не вызывает мышечного расслабления, характерного для транквилизаторов. Соединения, у которых между фосфорильным и гидразидным фрагментами присутствует дополнительный фениленовый спейсер (С-1, С-3), не проявляют анксиолитической активности и оказывают стимулирующее действие в «открытом поле», повышая количество «заглядываний» в отверстия. Транквилизатор «фосеназид» в эквитоксических дозах не проявляет психотропной активности. Результаты экспериментов свидетельствуют о целесообразности проведения направленного синтеза и изучения психотропной активности в ряду новых аналогов фосеназида.

Ключевые слова: психотропная активность, анксиолитическое действие, гидразиды фосфорилированных карбоновых кислот.

A STUDY OF PSYCHOTROPIC PROPERTIES OF THE NEW ANALOGUES OF TRANQUILIZER PHOSENAZID

Nikitin D.O.¹, Plotnikova A.V.¹, Galimova L.F.¹, Semina I.I.¹, Baichurina A.Z.¹,
Ivanova S.U.², Gazizov M.B.², Sadikova R.G.¹

¹Kazan State Medical University, Kazan, e-mail: seminai@mail.ru;

²Kazan National Research Technological University, Kazan

Psychotropic activity of new analogues of tranquilizer fosenazid, representative of hydrazides of phosphorylated carboxylic acids was studied. Experiments on white mice have shown that all the compounds have a significantly lower toxicity than fosenazid, and exhibit psychotropic properties, the nature of which depends on the chemical structure. The compound, which has a phosphoryl and hydrazide fragments linked directly (C-2), has an inhibitory effect in the "open field" and anxiolytic effect on the model of "conflict situation", but does not cause muscle relaxation, typical of tranquilizers. Compounds in which between phosphoryl hydrazide and phenyl moieties additional spacer is present (C-1, C-3), do not exhibit anxiolytic activity and have a stimulating effect in the "open field". Tranquilizer fosenazid in investigated doses did not exhibit psychotropic activity. Experimental results demonstrate the feasibility of the directed synthesis and study of psychotropic activity in a series of new analogs of fosenazid.

Keywords: psychotropic activity, anxiolytic action, hydrazides of phosphorylated carboxylic acids.

Ранее нами были описаны психотропные свойства аналогов транквилизатора фосеназида, производного гидразидов фосфорилированных карбоновых кислот, в химической структуре которого фосфорильный и гидразидный фрагменты соединены посредством метиленовой группы – так называемого метиленового спейсера. Было показано, что соединения проявляют анксиолитическую, антидепрессивную активность и положительно влияют на процессы обучения и памяти [4,6].

Подробный анализ зависимости активности от химической структуры показал, что для проявления психотропного действия имеет значение замещения как в фосфорильном, так и гидразидном фрагментах [3,9]. Доказано, что соединения с незамещенной гидразидной группой проявляют наибольшую активность, а замещенные гидразиды, хотя и являются практически нетоксичными, не обладают психотропными свойствами. Психотропная активность соединений зависит от природы заместителей в фосфорильном фрагменте: замещение одного из фенильных радикалов при атоме фосфора у фосеназида на хлорэтоксильную группу повышает способность улучшать обучение и память, но в то же время ослабляет анксиолитические свойства [7,9]

В продолжение исследований были синтезированы два новых типа соединений, химические структуры которых различаются расстоянием между гидразидным и фосфорильным фрагментами: 1 – фосфорильный и гидразидный фрагменты связаны непосредственно между собой, без метиленового спейсера; 2 – между фосфорильным и гидразидным фрагментами присутствует дополнительный фениленовый спейсер.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение психотропной активности полученных соединений для определения целесообразности дальнейшей разработки потенциальных лекарственных средств в этом направлении.

Материалы и методы исследования

Объектами исследований явились соединения, синтезированные на кафедре органической химии ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет». В качестве препарата сравнения была использована субстанция фосеназида. Структурные формулы соединений и их ЛД₅₀ при внутрибрюшинном введении белым мышам представлены в таблице 1.

Таблица 1

Структурные формулы новых аналогов фосеназида и их ЛД₅₀ при внутрибрюшинном введении белым мышам

Соединение	Формула соединения	ЛД ₅₀ (мг/кг)
4-(Диэтилфосфинилметил)бензолкарбоксихидразид (С-1)	$\text{Et}_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CONHNH}_2$	2100±150
Диэтилфосфинилметангидразид (С-2)	$\text{Et}_2\text{P}(\text{O})\text{CONHNH}_2$	>10 000
4-(Дифенилфосфинилметил)бензолкарбоксихидразид (С-3)	$\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CONHNH}_2$	>5000
Фосеназид	$\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CONHNH}_2$	350±35

С целью оптимизации экспериментальных исследований было проведено прогнозирование нейротропной активности новых аналогов с использованием компьютерной программы PASS online (Prediction of Activity Spectra for Substances) [4]. Результаты прогноза вероятной биологической активности представлены в виде списка видов активностей с расчетными оценками вероятности наличия (P_a) или отсутствия (P_i) от 0 до 1.

Эксперименты проведены на 356 белых беспородных мышах-самцах массой 18–22 г. До начала экспериментов все животные содержались в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997), а также правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96). Все исследования были одобрены комитетом по этической экспертизе.

Экспериментальные работы по исследованию спектра психотропной активности соединений были проведены согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [2].

Для изучения двигательной и исследовательской реакции животных использовали метод «открытое поле» [8,12] на установке «Открытое поле» (НПК Открытая Наука, Москва, Россия), анксиолитическую активность изучали на модели «конфликтная ситуация с водной депривацией» [11], антидепрессивную – на модели «поведенческое отчаяние» [10].

Мышечно-расслабляющее действие оценивали по времени удержания животных на вращающемся стержне.

Соединения вводили внутривенно за 30 мин до тестирования в дозах, составляющих 1/100 и 1/50 от LD_{50} . Контрольным группам животных вводили соответствующие объемы физиологического раствора. В качестве препаратов сравнения использовали мелипрамин (7 мг/кг «Эгис», Венгрия), диазепам (2 мг/кг «Гедеон Рихтер», Венгрия) и фосеназид (0,3 и 3 мг/кг).

Результаты экспериментов обрабатывали статистически с вычислением t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Как видно из таблицы 1, наименее токсичным является соединение С-2, у которого летальная доза не определялась при введении даже 10 000 мг/кг. Соединение С-3 является нерастворимым; максимальная доза, которую можно было ввести (5000 мг/кг), не вызвала гибели животных. Введение мышам соединения С-1 в токсических дозах вызывало сильное угнетение, атаксию, нарушение дыхания. Гибель животных наблюдалась в течение суток.

При введении соединений С-2 и С-3 в дозах 10 000 мг/кг и 5000 мг/кг соответственно картина общего действия характеризовалась лишь умеренным угнетением.

Поскольку основным проявлением общего действия соединений явилось угнетение центральной нервной системы, было осуществлено компьютерное прогнозирование спектра их психотропной активности с использованием программы PASS. Компьютерный прогноз показал, что у соединений С-1 и С-2 вероятно ($P_a > 0,5$) наличие анксиолитической активности, а у соединения С-2 также антидепрессивных и ноотропных свойств (табл. 2).

Таблица 2

Прогнозируемая психотропная активность соединений С-1 и С-2

Шифр соединения	Ноотропная активность		Антидепрессивная активность		Анксиолитическая активность	
	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i
С-1	0,476	0,150	0,330	0,016	0,564	0,023
С-2	0,534	0,056	0,577	0,022	0,541	0,062

Результаты исследования соединений на модели «открытое поле» представлены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние исследуемых соединений в дозах, составляющих 1/100 и 1/50 от ЛД₅₀, на двигательную-исследовательскую активность у мышей на модели «открытое поле»

Экспериментальные группы (n = количество мышей)	Доза, мг/кг	Число пересеченных линий за 3 мин, с	Число заглядываний в отверстия за 3 мин
Контроль (n = 8)		45±5	21±4
С-1 (n = 8)	40	35±5	26±3
Контроль (n = 8)		45±5	21±4
С-1 (n = 8)	20	36±7	31±4*
Контроль (n = 8)		45±5	21±4
С-2 (n = 8)	200	13±3*	23±5
Контроль (n = 8)		51±7	18±3
С-2 (n = 8)	100	38±8	15±4
Контроль (n = 8)		51±7	18±3
С-3 (n = 9)	100	54±8	27±4*

Контроль (n = 8)		51±7	18±3
С-3 (n =8)	50	41±7	28±5*
Контроль		51±7	18±3
Фосеназид	6	52±9	17±5

* – разница достоверна при $p < 0,05$.

Как видно из таблицы, лишь соединение С-2 в дозе 200 мг/кг в значительной степени снижало двигательную активность мышей (на 77 % по сравнению с контролем), что свидетельствует об угнетающей составляющей в спектре его нейротропного действия.

Соединения С-1 и С-3 повышали исследовательскую активность животных, о чем свидетельствует увеличение количества заглядываний в отверстия и показывает целесообразность исследования ноотропных свойств этих соединений.

Фосеназид в эквитоксической дозе не изменял поведения животных в «открытом поле».

Учитывая, что наличие угнетающего действия характерно для транквилизаторов (анксиолитиков), нами были исследованы анксиолитические свойства соединения С-2 на модели «конфликтная ситуация». Результаты исследования представлены в таблице 4.

Таблица 4

Изучение соединения С-2, диазепама и фосеназида на модели «конфликтная ситуация»

Экспериментальные группы (n = количество мышей)	Доза, мг/кг	Количество взятий воды
Контроль (n = 8)		4,1±0,5
Соединение С-2 (n = 8)	200	6,8±1,0*
Контроль (n = 8)		4,1±0,5
Соединение С-2 (n = 8)	100	5,8±0,8
Контроль (n = 9)		4,1±0,5
Диазепам (n = 10)	2	9,2±1,0*
Контроль (n = 10)		4,1±0,5
Фосеназид (n = 10)	6	4,8±1,0

* – разница достоверна при $p < 0,05$.

Соединение С-2 в дозе 200 мг/кг, подобно эталонному транквилизатору диазепаму и в отличие от фосеназида, увеличивало количество подходов и взятий воды из поилки, что свидетельствует о наличии у него анксиолитической активности. Известно, что

транквилизирующая активность фосеназида присутствует в спектре его действия в значительно более высоких дозах (1/5 - 1/10 от ЛД₅₀) [1].

Все исследуемые соединения, как и фосеназид, не оказывали влияния на время удержания животных на вращающемся стержне в отличие от классического транквилизатора диазепама, обладающего выраженным мышечно-расслабляющим действием, уменьшавшим время удержания животных на вращающемся стержне на 45 % ($p < 0,05$).

В связи с тем, что ранее было показано, что гидразиды фосфорилированных карбоновых кислот оказывают антидепрессивное действие, а также в соответствии с результатами компьютерного прогноза, была изучена антидепрессивная активность соединения С-2 на модели «поведенческое отчаяние». Результаты экспериментов представлены в таблице 5.

Таблица 5

Влияние соединения С-2, мелипрамина и фосеназида на длительность периодов замирания у мышей на модели «поведенческое отчаяние»

Экспериментальные группы (n = количество животных)	Доза, мг/кг	Время замирания $M \pm m$, %
Контроль (n = 8)		221 \pm 35
Соединение С-2 (n = 8)	100	298 \pm 22
Контроль (n = 11)		221 \pm 35
Мелипрамин (n = 8)	7	139 \pm 26*
Контроль (n = 9)		221 \pm 35
Фосеназид (n = 10)	6	254 \pm 39

* – при $p < 0,05$ достоверные различия по отношению к контролю.

Как видно из таблицы 5, лишь эталонный антидепрессант мелипрамин уменьшал длительность периодов замирания. Соединение С-2 и фосеназид не влияли на этот показатель, что предполагает отсутствие антидепрессивной активности.

Таким образом, проведенные исследования показали, что аналоги фосеназида нового типа являются значительно менее токсичными веществами и проявляют психотропные свойства, характер которых зависит от химической структуры. Результаты экспериментов свидетельствуют о целесообразности проведения направленного синтеза и изучения психотропной активности в ряду новых аналогов фосеназида.

Выводы:

1. Соединение С-2, в структуре которого фосфорильный и гидразидный фрагменты связаны непосредственно между собой, без метиленового спейсера, являются менее токсичными, чем

соединения С-1 и С-3, у которых между гидразидным и фосфорильным фрагментами присутствует дополнительный фениленовый спейсер.

2. Соединение С-2 оказывает угнетающее действие на центральную нервную систему и проявляет анксиолитические свойства; соединения С-1 и С-3 обладают стимулирующим действием.

3. Целесообразен синтез и фармакологическое изучение психотропной активности новых аналогов фосеназида.

Список литературы

1. Заиконникова И.В. Фармакологическая характеристика транквилизирующего действия гидифена / И.В. Заиконникова, А.В. Вальдман, М.М. Козловская // Фармакология и токсикология. – 1980. – Т. 43, № 4. – С. 334–336.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / под ред. А.Н. Миронова, К. Грифи. – М., 2012. – 944 с.
3. Семина И.И. Синтез и фармакологическая активность гидразида (2-хлорэтокси-4'-диметиламинофенил) фосфорилуксусной кислоты и его метаболит-N-ацетильного производного /И.И. Семина, В.П. Балашов, Т.В. Курмышева и др. // Хим.-фарм. журн. – 2013. – Т. 47, № 1. – С. 29-31.
4. Семина И.И. Психотропная активность незамещенных производных фосфорилацетогидразидов / И.И. Семина, Е.В. Шиловская, Н.А. Тихонова и др. // Хим.-фарм. журн. – 2002. – Т. 36, № 2. – С. 3-5.
5. Филимонов Д.А. Компьютерное прогнозирование спектра биологической активности химических соединений по их структурной формуле: система PASS / Д.А. Филимонов, В.В. Поройков, Е.И. Караичева и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1995. – Т.58, № 2. – С.56-62.
6. Шиловская Е.В. Психотропные свойства N-замещенных фосфорилацетатов аммония / Е.В. Шиловская, И.И. Семина, А.З. Байчурина и др. // Хим.-фарм. журн. – 2000. – Т. 34, № 1. – С. 26-28.
7. Шиловская Е.В. Компьютерный прогноз, синтез и психотропные свойства гидразиниевых солей аосфорилацетогидразидов / Е.В. Шиловская, И.И. Семина, Р.И. Тарасова и др. // Хим.-фарм. журн. – 2013. – Т. 47, № 4. – С. 26-29.
8. Ivinskis A. A study validity of open-field measures // Austral. J. Psychol. – 1970. – V. 22. – P. 175-183.

9. Porsolt R.D. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants / R.D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre // Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie. – 1977. – Vol. 229, № 2. – P. 327–336.
10. Semina I. The first nootropics among non-anticholinesterase compounds. Study of structure-neurotropic activity relationships of nitrogen-containing phosphorylacetate derivatives / I. Semina, R. Tarasova, O. Voskresenskaya et al. // Phosphorus, Sulfur et Silicon. – 1996. – V. 109-110. – P. 373-376.
11. Vogel, J.R. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents / J.R. Vogel, B. Beer, D.E. Clody // Psychopharmacologia. – 1971. – Vol. 21. – P.1-7.
12. Walsh R.N. The open-field test: a critical review / R.N. Walsh, R.A. Cummins / Psychological Bull. – 1976. – V.83. – P. 482-504.