

УДК 615.262.2+615.454.1  
DOI: 10.17816/pmj39465-70

## СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ 4-АРИЛ-2-БЕНЗОИЛМЕТИЛЕНГИДРАЗОНО-4-ОКСОБУТАНОВЫХ КИСЛОТ

*Н.А. Пулина\**, *А.И. Краснова*, *А.С. Кузнецов*, *Е.А. Наугольных*

*Пермская государственная фармацевтическая академия, г. Пермь, Россия*

## SYNTHESIS AND STUDY OF PSYCHOTROPIC ACTIVITY SPECTRUM OF 4-ARYL-2-BENZOYLMETHYLENEHYDRAZONO-4-OXOBUTANOIC ACIDS

*N.A. Pulina\**, *A.I. Krasnova*, *A.S. Kuznetsov*, *E.A. Naugolnykh*

*Perm State Pharmaceutical Academy, Russian Federation*

**Цель.** Изучить психотропную активность 4-арил-2-бензоилметиленигидразон-4-оксобутановых кислот, а также установить связь строения веществ с их биологическим действием.

**Материалы и методы.** Изучен спектр психотропной активности 4-арил-2-бензоилметиленигидразон-4-оксобутановых кислот на экспериментальных животных с использованием тестов «Открытое поле», «Черно-белая камера», «Экстраполяционное извлечение».

**Результаты.** Выявлены психофармакологические эффекты разной степени выраженности и направленности – у двух соединений отмечены анксиогенные свойства без ухудшения когнитивного потенциала, у одного вещества наблюдается тенденция к проявлению анксиолитической активности. Обнаружено влияние определенных радикалов в структуре веществ на изучаемые эффекты.

**Выводы.** Полученные закономерности связи строения оригинальных веществ с их психотропным действием могут быть использованы в дальнейшем целенаправленном синтезе и поиске новых отечественных фармацевтических субстанций с изучаемыми эффектами в ряду производных 2,4-диоксобутановых кислот.

**Ключевые слова.** Гидразоны 2,4-диоксобутановых кислот; психотропная активность.

© Пулина Н.А., Краснова А.И., Кузнецов А.С., Наугольных Е.А., 2022

тел. +7 902 473 12 17

e-mail: pulina-nata@mail.ru

[Пулина Н.А. (\*контактное лицо) – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической технологии; Краснова А.И. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии; Кузнецов А.С. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры общей и органической химии; Наугольных Е.А. – кандидат филологических наук, доцент кафедры иностранных языков].

© Pulina N.A., Krasnova A.I., Kuznetsov A.S., Naugolnykh E.A., 2022

tel. +7 902 473 12 17

e-mail: pulina-nata@mail.ru

[Pulina N.A. (\*contact person) – Doctor of Pharmaceutical Science, Professor, Head of Department of Pharmaceutical Technology; Krasnova A.I. – Candidate of Pharmaceutical Science, Associate Professor, Department of Pharmacology; Kuznetsov A.S. – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of General and Organic Chemistry; Naugolnykh E.A. – Candidate of Philological Sciences, Associate Professor, Department of Foreign Languages].

**Objective.** To study psychotropic activity of 4-aryl-2-benzoylmethylenhidrazono-4-oxobutanoic acids, as well as to determine the relationship between the structure of substances and their biological activity.

**Materials and methods.** The spectrum of psychotropic activity of 4-aryl-2-benzoylmethylenehydrazono-4-oxobutanoic acids was studied on experimental animals using the open field, black-and-white camera, and extrapolation deliverance tests.

**Results.** Psychopharmacological effects of various severity and direction were revealed. Two compounds showed anxiogenic properties without deterioration in cognitive potential, one substance displayed a trend to anxiolytic activity. The effect of the certain radicals in the structure of the substances on the studied activities was found.

**Conclusions.** The obtained links between the structure of original compounds and their psychotropic action can be used in further targeted synthesis and search for new domestic pharmaceutical substances with investigated effects in a series of derivatives of 2,4-dioxobutanoic acids.

**Keywords.** Hydrazons of 2,4-dioxobutanoic acids, psychotropic activity.

## ВВЕДЕНИЕ

Распространенность психических и неврологических нарушений неуклонно растет, и, согласно данным Всемирной организации здравоохранения, численность больных во всем мире уже превысила миллиард человек. Арсенал имеющихся лекарственных препаратов не удовлетворяет в полной мере современным требованиям при лечении психических и неврологических расстройств, что обусловлено их недостаточной эффективностью, развитием побочных эффектов, влияющих на качество жизни [1]. Учитывая коморбидность психических расстройств, разработка новых препаратов с поливалентным действием является актуальной. В проведенных ранее фармакологических исследованиях гидразонопроизводных 4-арил-2,4-диоксобутановых кислот выявлены соединения, проявляющие высокую биологическую активность при низкой острой токсичности, однако их психотропное действие ранее не изучалось [2–6].

Для расширения спектра фармакологических исследований и поиска высокоактивных отечественных субстанций представляет интерес изучение психотропной активности новых 4-арил-2-бензоилметиленгидразоно-4-оксобутановых кислот.

*Цель исследования* – изучить спектр психотропной активности 4-арил-2-бензоилмети-

ленгидразоно-4-оксобутановых кислот и установить связь химического строения веществ с их биологическим действием.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования явились синтезированные нами 4-арил-2-бензоилметиленгидразоно-4-оксобутановые кислоты (пять соединений). Температуру плавления (разложения) определяли на приборе ПТП-2 (Россия) по методу 1-й Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания [7]. ИК-спектры записаны на приборе ФСМ-1201 (Россия) в виде пасты в вазелиновом масле. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  записаны на приборе Varian Mercury Plus (300 МГц), внутренний стандарт – ГМДС, растворитель ДМСО- $d_6$ .

Изучение влияния исследуемых веществ на центральную нервную систему осуществляли в психофармакологических тестах в стандартной модификации: тест «открытое поле», тест «Черно-белая камера», тест «Экстраполяционное избавление» [8]. Тест «Открытое поле» проводили на белых нелинейных крысах, которых помещали в центр круглой арены с полом, расчерченным на квадраты. В течение 3-минутной экспозиции регистрировали показатели активности животных: горизонтальную (количество пересеченных квадратов) и вертикальную (число подъемов

на задние лапы – стоек) двигательную активность, количество исследованных отверстий, груминг (число касаний морды лапами, умывание), а также дефекацию (количество болюсов). Измерения проводили в тишине при обычном освещении. Для оценки тревожности и реакции на новизну обстановки экспериментальных животных помещали в «черно-белую камеру», которая представляет собой бокс, разделенный на два отсека: один ярко освещен светодиодной лампой (390 лк), второй остается затемненным. В ходе эксперимента крысу высаживали в светлое отделение хвостом к отверстию и в течение 3 мин регистрировали: латентный период (время, прошедшее от момента посадки животного на светлую сторону до первого перехода в темный отсек установки), время пребывания в светлом отсеке и количество переходов между отсеками. Тестирование в установке «Экстраполяционное избавление» заключалось в помещении крыс в экспериментальную установку, которая состоит из внутреннего цилиндра из прозрачного пластика, вмонтированного во внешнюю емкость (бак). Бак заполняют водой ( $t = 21-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) так, чтобы цилиндр погружался в воду на 2 см. После помещения животных в установку наблюдали за их поведением в течение 2 мин, регистрируя латентный период подныривания под край цилиндра и долю животных, решивших экстраполяционную задачу (%). Во всех психофармакологических исследованиях изучаемые соединения, препарат сравнения пираретам вводили внутривентрикулярно за 60 мин до начала тестов в скрининговой дозе 50 мг/кг. Контрольной группе крыс вводилась вода очищенная.

Полученные экспериментальные данные статистически обрабатывали с использованием расширенного пакет-анализа Microsoft Excel 2010. Вычисляли среднее значение и его стандартную ошибку ( $M \pm m$ ). Полученные результаты проверяли на нормальность

распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для оценки средних значений при нормальном распределении использовали  $t$ -критерий Стьюдента, при ненормальном распределении – непараметрический  $U$ -критерий Манна – Уитни. Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез изучаемых 4-арил-2-бензоил-метиленигидразоно-4-оксобутановых кислот (1a-e), включая исходные производные, осуществляли по методикам, описанным в работах [5, 6]. Используемые химические методики просты по выполнению, легко воспроизводимы, соединения получены с высоким выходом. Структура веществ и их индивидуальность доказаны физико-химическими и инструментальными методами анализа [7].

Полученные соединения были подвергнуты фармакологическому скринингу на наличие психотропной активности (табл. 1, 2).

Установлено, что введение соединений 1b и 1c, содержащих в 4-м положении арильного радикала электронодонорную группу, сопровождалось достоверно значимым угнетением локомоторной активности животных, что характеризовалось уменьшением количества пресеченных квадратов и количества вертикальных вставаний. Полученные данные могут свидетельствовать о возможном проявлении седативных и / или анксиогенных свойств. Кроме того, при введении вещества 1c достоверно уменьшалось количество умываний крыс и повышался уровень дефекации, по сравнению с данными контрольной группы, что может указывать на увеличение эмоционального напряжения животных, проявление страха и беспокойства. Остальные исследуемые вещества не оказывали негативных изменений на поведенческие реакции: показатели локомоторной,

Таблица 1

**Влияние исследуемых веществ на поведенческие реакции животных в тесте  
«Открытое поле»**

Соединение	Количество обследованных полей	Количество вертикальных вставаний	Груминг	Количество исследованных отверстий	Дефекация (количество болюсов)
1a	23,8 ± 2,1	9,6 ± 1,7	5,6 ± 1,9	5,0 ± 1,4	2,4 ± 1,0
1b	10,4 ± 1,8 <sup>1*2</sup>	1,2 ± 0,2 <sup>1*2</sup>	4,4 ± 1,3	3,6 ± 1,4	0,4 ± 0,4
1c	13,8 ± 1,1 <sup>1*2</sup>	4,2 ± 0,7	3,8 ± 1,6 <sup>1</sup>	1,8 ± 1,0	2,4 ± 0,7 <sup>1</sup>
1d	30,2 ± 3,2	3,8 ± 1,3	4,8 ± 1,2	3,8 ± 1,1	0,2 ± 0,2
1e	25,4 ± 2,7	2,8 ± 1,1	8,8 ± 0,9	3,6 ± 1,4	0,8 ± 0,8
Интактный контроль	35,0 ± 2,9	7,4 ± 2,2	8,4 ± 0,5	3,6 ± 0,5	0,2 ± 0,2
Пирацетам	22,4 ± 2,1	6,2 ± 1,1	5,4 ± 1,6	2,2 ± 0,7	2,2 ± 0,8

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ; 1 – по сравнению с интактной контрольной группой; 2 – по сравнению с пирацетамом.

Таблица 2

**Влияние исследуемых веществ на поведенческие реакции животных в тестах  
«Черно-белая камера», «Экстраполяционное избавление»**

Соединение	«Черно-белая камера»			«Экстраполяционное избавление»	
	латентный период, с	время пребывания в светлом отсеке, с	количество переходов	латентный период подныривания, с	количество животных, решивших задачу, %
1a	14,6 ± 4,6	56,0 ± 8,4 <sup>1</sup>	2,6 ± 0,5 <sup>1*2</sup>	26,8 ± 8,2	100
1b	4,8 ± 1,2 <sup>1</sup>	16,8 ± 4,9	1,2 ± 0,5	14,8 ± 3,6 <sup>1</sup>	100
1c	4,0 ± 0,8 <sup>1</sup>	8,8 ± 1,5 <sup>1</sup>	0,8 ± 1,6	10,6 ± 2,5 <sup>1</sup>	100
1d	4,2 ± 0,6 <sup>1</sup>	6,6 ± 1,6 <sup>1</sup>	0,4 ± 0,2	9,2 ± 2,2 <sup>1</sup>	100
1e	6,8 ± 2,4	30,4 ± 5,0	2,0 ± 0,6	8,6 ± 2,6 <sup>1</sup>	100
Интактный контроль	13,6 ± 3,4	21,0 ± 4,6	0,4 ± 0,2	31,6 ± 5,9	100
Пирацетам	8,0 ± 1,9	23,6 ± 4,3	0,4 ± 0,2	21,4 ± 3,5	100

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ; 1 – по сравнению с интактной контрольной группой; 2 – по сравнению с пирацетамом.

ориентировочно-исследовательской активности, эмоционального состояния (груминг, количество болюсов) оказались сопоставимы с данными интактного контроля и препарата сравнения пирацетама (см. табл. 1).

В тесте «черно-белая камера» при введении соединений 1b, 1c, 1d у животных сохранялось преобладание защитного поведения на уровне показателей интактного контроля, о чем свидетельствовал быстрый переход крыс в темный отсек и преимущественное нахождение в нем, а также минимальное число переходов из отсека в отсек (табл. 2). Для веществ 1b, 1c полученные дан-

ные согласуются с результатами теста «открытое поле» и могут расцениваться как анксиогенный эффект. Следует отметить, что у производного 1a, не имеющего заместителей в 4-м положении арильного радикала, было отмечено достоверное увеличение количества переходов и времени пребывания животных в светлом отсеке, что указывает на возможную способность указанного вещества подавлять чувство страха открытого пространства и оказывать некоторое анксиолитическое действие.

В тесте «Экстраполяционное избавление» (см. табл. 2) животные, получавшие

производные 1b, 1c, 1d, достоверно быстрее решали задачу экстраполяционного избавления от аверсивной среды по сравнению с контрольной группой, что может свидетельствовать о ненарушенном когнитивном потенциале животных и быстром преодолении острой стресс-ситуации, несмотря на выявление в других тестах анксиогенных показателей. Для соединений 1a, 1e не выявлено статистически значимых различий с интактной контрольной группой и препаратом сравнения пираретамом по показателю латентного периода подныривания.

В ходе изучения спектра психотропной активности полученных соединений выявлены психофармакологические эффекты разной степени выраженности и направленности. Отмечено, что введение в 4-е положение арильного радикала электронодонорной группы (соединения 1b, 1c) способствует проявлению анксиогенных (седативных) свойств у животных без ухудшения когнитивных функций. В случае отсутствия заместителей в арильном фрагменте (соединение 1a) отмечается проявление анксиолитических свойств без ухудшения когнитивного потенциала животных.

### Выводы

1. Таким образом, исследование психотропной активности 4-арил-2-бензоилметилгидразино-4-оксобутановых кислот позволило выявить соединение с потенциальными анксиолитическими свойствами. Установлено, что наличие в структуре электронодонорных заместителей в арильном радикале способствует утрате противотревожной активности и развитию анксиогенного эффекта.

2. Результаты корреляции «структура – активность» могут быть использованы в дальнейшем синтезе производных 2,4-диоксобутановых кислот и поиске среди них новых отечественных фармацевтических субстанций психотропного действия.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Stein D.J., He Y., Phillips A., Sabakian B.J., Williams J., Patel V. Global mental health and neuroscience: potential synergies. *Lancet Psychiatry* 2015; 2 (2): 178–85.

2. Кузнецов А.С., Собин Ф.В., Кожухарь В.Ю., Пулина Н.А. Оценка перспективности поиска биологически активных соединений в ряду производных 4-R-2-гидроксо-4-оксо-2-бутеновых кислот. *Глобальный научный потенциал* 2013; 4: 8–11.

3. Пулина Н.А., Кузнецов А.С., Краснова А.И., Новикова В.В. Синтез, антимикробная активность и влияние на поведенческие реакции N-замещенных гидразидов 4-арил-2-гидроксо-4-оксобут-2-еновых кислот и их комплексных производных. *Химико-фармацевтический журнал* 2019; 53 (3): 30–34.

4. Пулина Н.А., Кузнецов А.С., Чащина С.В. Изучение анальгетической и противовоспалительной активности гидразиноподобных 2,4-диоксобутановых кислот. *Пермский медицинский журнал* 2020; 37 (4): 115–119.

5. Пулина Н.А., Залесов В.В., Быстрицкая О.А., Рубцов А.Е., Кутковая Н.В. Синтез и биологическая активность замещенных 4-арил-2-метилгидразино-4-оксобут-2-еновых кислот и их производных. *Химико-фармацевтический журнал* 2009; 43 (8): 17–20.

6. Быков Р.А., Трапезникова Н.Н., Баландина С.Ю., Комарова О.А., Махмудов Р.Р., Пулина Н.А., Собин Ф.В., Рубцов А.Е. Синтез и биологическая активность амидов 4-арил-2-[(2-оксо-1,2-дифенилэтилиден)гидразинил]-4-оксобут-2-еновых кислот. *Химико-фармацевтический журнал* 2018; 52 (5): 33–36.

7. Государственная фармакопея Российской Федерации Министерства здравоохранения Российской Федерации XIV изд. М. 2018; 1: 1814.

8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных

средств. Часть первая. Под ред. А. Н. Мирнова. М.: Гриф и К 2013; 944.

#### REFERENCES

1. Stein D.J., He Y., Phillips A., Sabakian B.J., Williams J., Patel V. Global mental health and neuroscience: potential synergies. *Lancet Psychiatry* 2015; 2 (2): 178–85.

2. Kuznetsov A.S., Sobin F.V., Kozhukhar V.Yu., Pulina N.A. Evaluation of the prospects of searching for biologically active compounds in the series of 4-R-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acid derivatives. *Global Science Capacity* 2013; 4: 8–11 (in Russian).

3. Pulina N.A., Kuznetsov A.S., Krasnova A.I., Novikova V.V. Synthesis, antimicrobial activity, and behavioral response effects of N-substituted 4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoic acid hydrazides and their metal complexes. *Pharmaceutical chemistry journal* 2019; 53 (3): 220–224 (in Russian).

4. Pulina N.A., Kuznetsov A.S., Chaschina S.V. Studying of analgesic and anti-inflammatory activity of 2,4-dioxobutanoic acid. *Permский медицинский журнал* 2020; 37 (4): 115–119 (in Russian).

5. Pulina N.A., Zalesov V.V., Bystritskaya O.A., Rubtsov A.E., Kutkovaya N.V. Synthesis and biological

activity of substituted 4-aryl-2-methylenehydrazino-4-oxobut-2-enoic acids and their derivatives. *Pharmaceutical chemistry journal* 2009; 43 (8): 444–447 (in Russian).

6. Bykov R.A., Balandina S.Y., Komarova O.A., Makhmudov R.R., Sobin F.V., Rubtsov A.E., Trapeznikova N.N., Pulina N.A. Synthesis and biological activity of 4-aryl-2-[(2-oxo-1,2-diphenylethylidene)-hydrazinyl]-4-oxobut-2-enoic acid amides. *Pharmaceutical chemistry journal* 2018; 53 (3): 220–224 (in Russian).

7. State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the Ministry of Health of the Russian Federation 14<sup>th</sup> ed. Moscow 2018; 1: 1814 (in Russian).

8. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part One. Pod red. A.N. Mironova. Moscow: Grif i K 2013; 944 (in Russian).

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 г.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 30.05.2022

Одобрена: 10.06.2022

Принята к публикации: 27.06.2022

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом: Синтез и изучение спектра психотропной активности 4-арил-2-бензоилметиленигидразино-4-оксобутановых кислот / Н.А. Пулина, А.И. Краснова, А.С. Кузнецов, Е.А. Наугольных // Пермский медицинский журнал. – 2022. – Т. 39, № 4. – С. 65–70. DOI: 10.17816/pmj39465-70

Please cite this article in English as: Pulina N.A., Krasnova A.I., Kuznetsov A.S., Naugolnykh E.A. Synthesis and study of psychotropic activity spectrum of 4-aryl-2-benzoylmethylenehydrazono-4-oxobutanoic acids. *Perm Medical Journal*, 2022, vol. 39, no. 4, pp. 65-70. DOI: 10.17816/pmj39465-70