

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

Научная статья

УДК 615.262.2+615.454.1

DOI: 10.17816/pmj403139-145

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2,4-ДИОКСОБУТАНОВЫХ КИСЛОТ, СОДЕРЖАЩИХ ФРАГМЕНТ БЕНЗИМИДАЗОЛА

А.И. Краснова, Н.А. Пулина, В.Д. Полежаева*

Пермская государственная фармацевтическая академия, Россия

EXPERIMENTAL STUDY OF NEUROPSYCHOTROPIC ACTIVITY OF NEW 2,4-DIOXOBUTANOIC ACID DERIVATIVES WITH BENZIMIDAZOLE FRAGMENT

A.I. Krasnova, N.A. Pulina, V.D. Polezhaeva*

Perm State Pharmaceutical Academy, Russian Federation

Цель. Изучить нейрорепсихотропную активность новых производных 2,4-диоксобутановых кислот, содержащих фрагмент бензимидазола, а также установить связь строения веществ с их биологическим действием.

Материалы и методы. Изучен спектр нейрорепсихотропной активности производных 2,4-диоксобутановых кислот, содержащих фрагмент бензимидазола, на экспериментальных животных с использованием тестов «Открытое поле», «Черно-белая камера», «Экстраполяционное избавление».

Результаты. Выявлено соединение с потенциальными анксиолитическими свойствами. Показана зависимость проявления анксиогенных или анксиолитических свойств в случае наличия моно- или бициклических арен в структуре соответственно.

© Краснова А.И., Пулина Н.А., Полежаева В.Д., 2023

тел. +7 902 802 95 21

e-mail: krasnova_ai@mail.ru

[Краснова А.И. (*контактное лицо) – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии;

Пулина Н.А. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической технологии;

Полежаева В.Д. – аспирант, ассистент кафедры фармацевтической технологии].

© Krasnova A.I., Pulina N.A., Polezhaeva V.D., 2023

tel. +7 902 802 95 21

e-mail: krasnova_ai@mail.ru

[Krasnova A.I. (*contact person) – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacology; Pulina N.A. – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Technology; Polezhaeva V.D. – postgraduate student, Assistant of the Department of Pharmaceutical Technology].

Выводы. 2,4-Диоксобутановые кислоты, содержащие фрагмент бензимидазола, представляют интерес для поиска веществ с нейрпсихотропной активностью. Результаты анализа «структура – активность» целесообразно использовать в дальнейшем целенаправленном синтезе.

Ключевые слова. 2,4-Диоксобутановые кислоты, бензимидазол, нейрпсихотропная активность.

Objective. To study the neuropsychotropic activity of 2,4-dioxobutanoic acid derivatives containing a fragment of benzimidazole as well as to determine the relationship between the structure of substances and their biological effects.

Materials and methods. The spectrum of neuropsychotropic activity of 2,4-dioxobutanoic acid derivatives with benzimidazole was studied on experimental animals using the «open field», «black-and-white camera», and «extrapolation deliverance» tests.

Results. A compound with potential anxiolytic properties has been identified. The dependence of the manifestation of anxiogenic or anxiolytic properties in the presence of mono- or bicyclic arenes in the structure, respectively, is shown.

Conclusions. 2,4-Dioxobutane acids containing a fragment of benzimidazole are of interest for the search for substances with neuropsychotropic activity. The results of the “structure-activity” analysis should be used in further targeted synthesis.

Keywords. 2,4-Dioxobutanoic acids, benzimidazole, neuropsychotropic activity.

ВВЕДЕНИЕ

Бензимидазольный гетероцикл является одним из важнейших среди привилегированных фармакофорных фрагментов, используемых в направленном синтезе биологически активных соединений, поскольку его производные могут представлять собой структурные изостеры встречающихся в природе нуклеотидов, что позволяет прогнозировать их взаимодействие с биополимерами живых систем и огромный терапевтический потенциал в различных областях фармакологии [1; 2]. Так, известно, что бензимидазольный каркас является молекулярной основой агонистов и антагонистов трансмембранных рецепторов, сопряженных с G-белком, являющихся мишенью до 40 % выпускаемых лекарств [3]. Одним из перспективных направлений разработок производных бензимидазола является создание лекарственных средств нейрпсихотропного профиля, так, среди лекарственного ассортимента Российской Федерации успешно применяются афобазол® (4-[2-[(6-этокси-1H-бензимидазол-2-ил) сульфанил]этил]морфолин), метапрот® (этилтиобензимидазола гидробромида моно-

гидрат) и др. [4]. Учитывая необходимость разработки перспективных фармакологически активных веществ с целевой специфической активностью при минимуме побочных и токсических эффектов, а также приемлемыми фармакокинетическими характеристиками, особый интерес представляет синтез бензимидазольных производных на основе одного из важнейших метаболитов организма – пирувата. В проведенных ранее фармакологических исследованиях ароилпируватов гетериламмония были выявлены соединения, проявляющие высокую биологическую активность [5; 6]. Таким образом, для получения новых высокоактивных веществ актуальным является синтез соединений на основе 2,4-диоксобутановых кислот с использованием привилегированной подструктуры – бензимидазольного гетероцикла с последующим изучением нейрпсихотропной активности и корреляционного анализа «структура – активность» среди полученных соединений.

Цель исследования – изучить спектр нейрпсихотропной активности 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноатов и установить связь строения веществ с их биологическим действием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования являлись синтезированные 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноаты бензимидазолиламмония 1 а-г. Температуру плавления (разложения) определяли на приборе «ПТП-2» (Россия) по методу 1 Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания [7]. ИК-спектры записаны на приборе «ФСМ-1201» (Россия) в виде пасты в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ^1H записаны на приборе Varian Mercury Plus (300 МГц), внутренний стандарт – ГМДС, растворитель ДМСО- d_6 .

Изучение нейробиологической активности исследуемых веществ осуществляли в психофармакологических тестах в стандартной модификации: «Открытое поле», «Черно-белая камера», «Экстраполяционное избавление» [8].

Тест «Открытое поле» проводили на белых нелинейных крысах, согласно стандартной методике [8]. Показатели активности животных: горизонтальную (количество пересеченных квадратов) и вертикальную (число подъемов на задние лапы – стоек) двигательную, поисковую (количество заглядываний в отверстия) активность, груминг (число касаний морды лапами, умывание), а также дефекацию (количество болюсов) регистрировали в течение 3-минутной экспозиции. Для оценки тревожности и реакции на новизну обстановки экспериментальных животных помещали в установку «Черно-белая камера», состоящую из светлого (390 лк) и темного отсеков, разделенных непрозрачной перегородкой, в которой имеется переход (4 см). В ходе эксперимента в течение 3 мин регистрировали: латентный период (время, прошедшее от момента посадки животного на светлую сторону до первого перехода в темный отсек установки), общее время пребывания в светлом отсеке и количество переходов между отсеками. Тестирование «Экстраполяционное избавление» заключалось в помеще-

нии крыс в экспериментальную установку, которая состоит из внутреннего цилиндра из прозрачного пластика, вмонтированного во внешнюю емкость (бак). Бак заполняют водой ($t = 21-23$ °C) с расчетом погружения внутреннего цилиндра в воду на 2 см. После помещения животных в установку в течение 2-минутной экспозиции регистрировали латентный период подныривания под край цилиндра и долю (%) животных, решивших экстраполяционную задачу. Во всех психофармакологических исследованиях изучаемые соединения, препарат сравнения флуоксетин вводили внутривентрикулярно за 60 мин до начала тестов в скрининговой дозе 50 мг/кг. Контрольной группе крыс вводилась дистиллированная вода.

Полученные экспериментальные данные статистически обрабатывали с использованием расширенного пакет-анализа Microsoft Excel 2010. Вычисляли среднее значение и его стандартную ошибку ($M \pm SEM$). Полученные результаты проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для оценки средних значений при нормальном распределении использовали t -критерий Стьюдента, при распределении, отличающемся от нормального, использовали непараметрический U -критерий Манна – Уитни. Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

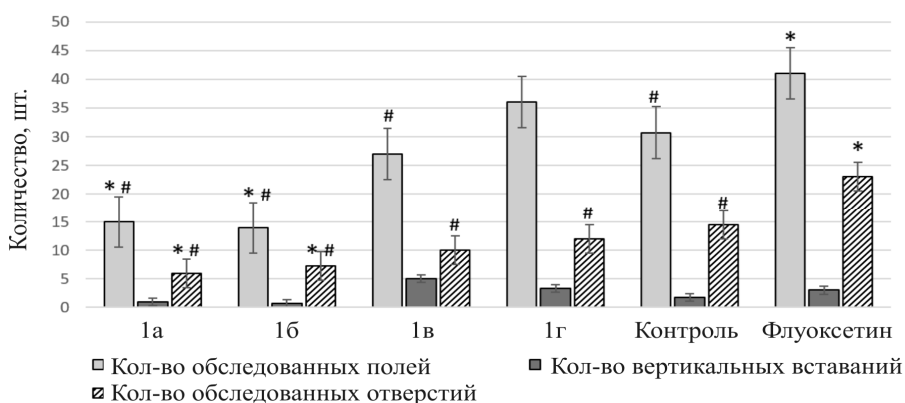
Синтез изучаемых 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноатов бензимидазолиламмония 1 а-г, включая исходные производные, осуществляли по методикам, описанным в работе [6].

Тест «Открытое поле» является одним из ведущих инструментов оценки индивидуально-типологических особенностей поведения мелких экспериментальных животных. Помещение крысы в установку «Открытое поле» сопровождается развитием определенной

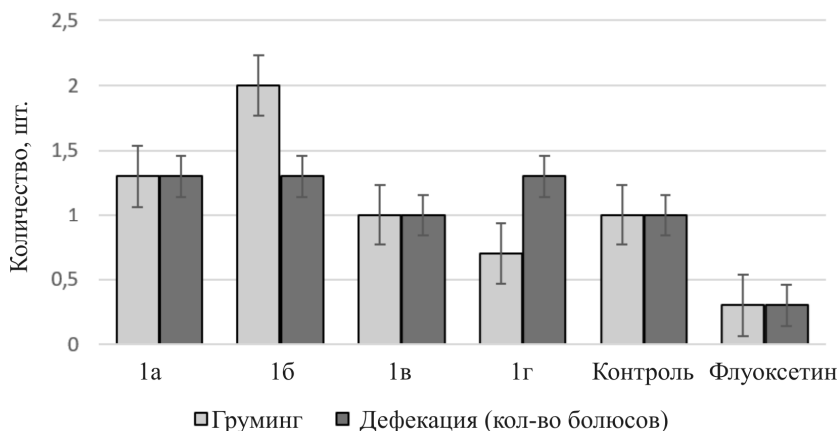
стрессовой реакции, отражающейся на поведении животного – двигательная активность (горизонтальная, вертикальная) и норковый рефлекс в совокупности определяют состояние активно-поисковой компоненты поведения, а уровень дефекаций и груминг – пассивно-оборонительной [8].

Изучение воздействия исследуемых соединений на активно-поисковую компоненту поведения в тесте «Открытое поле» показало, что при введении бутеноатов 1а, 1б, содержащих фе-

нильный и п-метилфенильный радикал, наблюдалось достоверно уменьшение количества обследованных полей и обследованных отверстий по сравнению с показателями контроля и препарата сравнения флуоксетин, что свидетельствует о некотором угнетении локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности (рис. 1, а), при этом показатели эмоционального состояния (груминг, количество болюсов) оказались сопоставимы с данными контроля и препаратом сравнения (рис. 1, б).



а



б

Рис. 1. Влияние исследуемых веществ на показатели: а – активно-поисковой компоненты поведения животных ($M \pm SEM$): * – отличия статистически значимы по отношению к контролю; # – отличия статистически значимы по отношению к препарату сравнения ($p < 0,05$, t-критерий Стьюдента); б – пассивно-оборонительной компоненты поведения животных ($M \pm SEM$): отличия статистически значимы * – по отношению к контролю; # – по отношению к препарату сравнения ($p < 0,05$, t-критерий Стьюдента)

Выявлено, что введение соединений 1в, 1г, содержащих нафтильный фрагмент, не оказывало негативного влияния на поведенческие реакции животных. Показатели локомоторной и исследовательской активности при введении вещества 1в не отличались от значений контрольной группы, а у бутеноата 1г – оказались сопоставимы с данными флуоксетина (см. рис. 1), для которого наблюдалась тенденция проявления психостимулирующего эффекта, что сопровождалось некоторым подавлением естественного страха животных перед открытой освещенной местностью и преобладанием исследовательского интереса к новому неизученному пространству.

Процедура тестирования поведения в «Черно-белой камере» предоставляет животному возможность выбора: или активное исследование новой ситуации (светлый отсек), или предпочтение нахождения в пределах темного ограниченного пространства

(экологически характерная для грызунов форма защитного поведения). В проведенном тесте выявлено, что при введении соединений 1а, 1б наблюдалась активация защитного поведения с вероятной повышенной тревожностью, о чем свидетельствовал быстрый переход крыс в темный отсек и преимущественное нахождение в нем, а также минимальное число переходов из отсека в отсек. При введении бутеноатов 1в, 1г показатели тревожного профиля поведения менялись – латентный период и общее время, проведенное в светлом отсеке, для вещества 1в статистически не отличались от данных контроля, при введении бутеноата 1г – наблюдалось статистически значимое увеличение времени пребывания животных в светлом отсеке и рост числа переходов на уровне флуоксетина, что может быть расценено как возможное проявление некоторого анксиолитического действия (рис. 2).

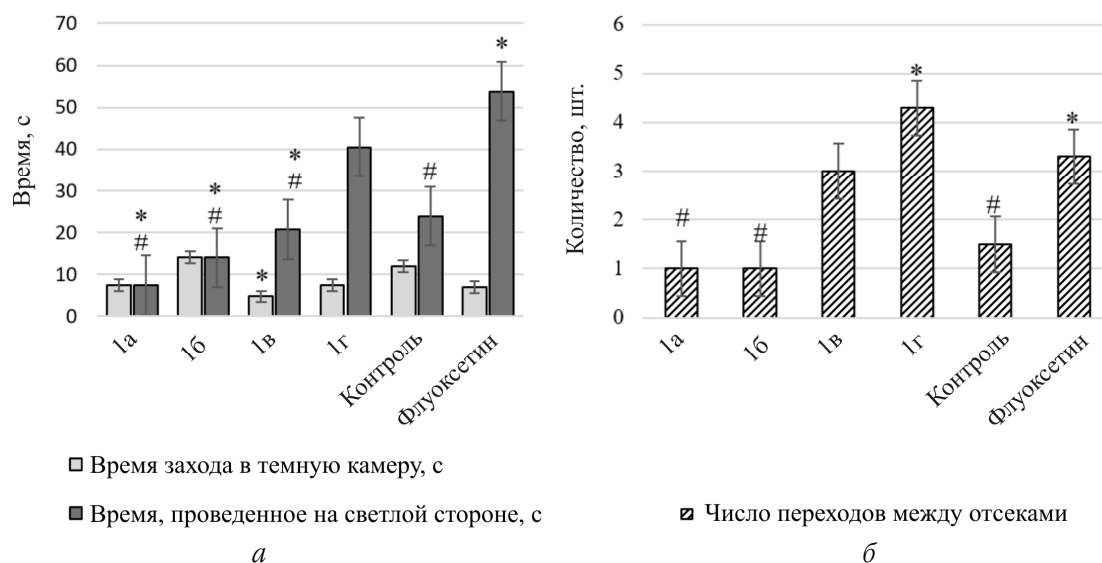


Рис. 2. Влияние исследуемых веществ на показатели тревожности животных в условиях теста «Черно-белая камера» ($M \pm SEM$): отличия статистически значимы * – по отношению к контролю; # – по отношению к препарату сравнения ($p < 0,05$, t -критерий Стьюдента); а – реактивность животных и общее время, проведенное в светлой камере, с; б – число переходов между отсеками

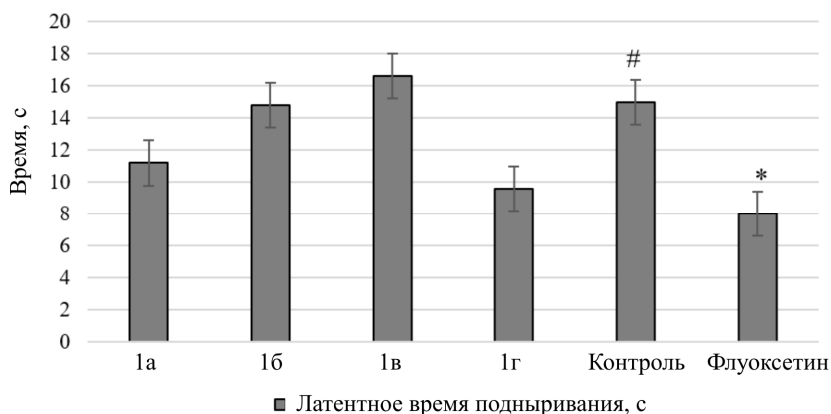


Рис. 3. Влияние исследуемых веществ на решение острой стресс-ситуации животными в тесте «Экстраполяционное избавление» ($M \pm SEM$): отличия статистически значимы * – по отношению к контролю; # – по отношению к препарату сравнения ($p < 0,05$, t -критерий Стьюдента)

В тесте «Экстраполяционное избавление» все животные, получавшие исследуемые производные, решали задачу экстраполяционного избавления от авersiveивной среды, что может свидетельствовать об отсутствии негативного воздействия изучаемых веществ на когнитивный потенциал животных. Достоверных различий с контролем и флуоксетином по показателю латентного периода подныривания не выявлено, однако для соединения 2а наблюдалась статистически незначимая тенденция к сокращению времени решения задачи по преодолению острой стресс-ситуации (рис. 3).

Экспериментальное изучение нейрорепроактивной активности исследуемых производных бензимидазолиламмония показало, что наличие фенильного радикала в 4-м положении ароилпирувата обеспечивает преобладание анксиогенного профиля поведения животных, о чем свидетельствует угнетение локомоторной, ориентировочно-исследовательской активности в открытом поле и активизация защитного поведения в черно-белой камере. Однако в случае наличия в качестве арила нафтильного фрагмента у изучаемых производных наблюдается обратная тенденция в поведении животных с появлением анксиолитического профиля.

ВЫВОДЫ

Таким образом, исследование нейрорепроактивной активности новых производных 2,4-диоксобутановых кислот, содержащих бензимидазольный фрагмент, позволило выявить соединение с потенциальными анксиолитическими свойствами. Выявлено, что появлению анксиолитических свойств способствует наличие в структуре бициклического фрагмента. Результаты корреляционного анализа «структура – активность» способствуют усовершенствованию целенаправленного синтеза и повышению эффективности разработок лекарственных веществ в области психофармакологии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Brishty S.R., Hossain M.J., Khandaker M.U., Faruque M.R.I., Osman H., Rahman S.M.A.* A Comprehensive Account on Recent Progress in Pharmacological Activities of Benzimidazole Derivatives. *Front Pharmacol.* 2021; 12: 762–807.
2. *Duarte C.D., Barreiro E.J., Fraga C.A.* Privileged structures: a useful concept for the rational design of new lead drug candidates. *Mini Rev Med Chem.* 2007; 7 (11): 1108–19.

3. Hauser A.S., Attwood M.M., Rask-Ander- sen M., Schiöth H.B., Gloriam D.E. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. *Nat Rev Drug Discov.* 2017; 16 (12): 829–842.

4. Регистр лекарственных средств Рос- сии. РЛС. Энциклопедия лекарств. 30-й вып. М. ВЕДАНТА 2021; 1536.

5. Пулина Н.А., Собин Ф.В., Юшкова Т.А., Краснова А.И., Юшков В.В. 2-Гидрокси-4-метилфенил-4-оксо-2-бутеноат тиазонилammo- ния, обладающий гипогликемической и ноо- тропной активностью: патент № 2512291 от 26.07.2011: available at: <http://www.findpatent.ru/patent/251/2512291.html>

6. Пулина Н.А., Собин Ф.В., Сыропя- тов Б.Я., Мокин П.А., Ковалева М.Ю. Синтез и антикоагулянтная активность производных α - оксокарбоновых кислот. Химико-фармацев- тический журнал 2012; 46 (12): 15–18.

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

8. Руководство по проведению докли- нических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Мироно- ва. М.: Гриф и К. 2013; 944.

REFERENCES

1. Brishty S.R., Hossain M.J., Khandaker M.U., Faruque M.R.I., Osman H., Rahman S.M.A. A Comprehensive Account on Recent Progress in Pharmacological Activities of Benzimidazole Derivatives. *Front Pharmacol* 2021; 12: 762–807.

2. Duarte C.D., Barreiro E.J., Fraga C.A. Privileged structures: a useful concept for the rational design of new lead drug candidates. *Mini Rev Med Chem.* 2007; 7 (11): 1108–19.

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом: Краснова, А.И. Экспериментальное изучение нейропсихотропной активности новых производных 2,4-диоксобу- тановых кислот, содержащих фрагмент бензимидазола / А.И. Краснова, Н.А. Пулина, В.Д. Полежаева // Пермский медицинский журнал. – 2023. – Т. 40, № 3. – С. 139–145. DOI: 10.17816/pmj403139-145

Please cite this article in English as: Krasnova A.I., Pulina N.A., Polezhaeva V.D. Experimental study of neuropsychotropic activity of new 2,4-dioxobutanoic acid derivatives with benzimidazole fragment. *Perm Medical Journal*, 2023, vol. 40, no. 3, pp. 139-145. DOI: 10.17816/pmj403139-145

3. Hauser A.S., Attwood M.M., Rask-Ander- sen M., Schiöth H.B., Gloriam D.E. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. *Nat Rev Drug Discov.* 2017; 16 (12): 829–842.

4. Encyclopedia of medicines 2020 of the Russian register of medicines. Moscow: VEDANTA 2019; 1536 (in Russian).

5. Pulina N.A., Sobin F.V., Yushkova T.A., Krasnova A.I., Yushkov V.V. 2-Hydroxy-4-methyl- phenyl-4-oxo-2-butenate of thiazonyl ammo- nium, possessing hypoglycemic and nootropic activity: Patent RF № 2512291 from 26.07.2011: available at: <http://www.findpatent.ru/patent/251/2512291.html> (in Russian).

6. Pulina N.A., Sobin F.V., Syropyatov B.Ya., Mokin P.A., Kovaleva M. Yu. Synthesis and anti- coagulant activity of α -oxocarbonic acid deriva- tives. *Pharm. Chem. J.* 2012; 46 (12): 15–18 (in Russian).

7. State Pharmacopoeia of the Russian Federa- tion of the Ministry of Health of the Russian Federa- tion 14th ed. Moscow 2018; 1: 1814 (in Russian).

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

Финансирование. Исследование вы- полнено при финансовой поддержке Перм- ского научно-образовательного центра «Ра- циональное недропользование», 2023 г.

Конфликт интересов. Авторы заяв- ляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов равноценен.

Поступила: 07.03.2023

Одобрена: 25.03.2023

Принята к публикации: 03.05.2023