Н. С. Макара, С. Ф. Габдрахманова, Т. А. Сапожникова, Р. Ю. Хисамутдинова, А. В. Ковальская, И. П. Цыпышева, Ф. С. Зарудий

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ (–)-ЦИТИЗИНА С НООТРОПНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

ФГБУН “Институт органической химии Уфимский научный центр” Российская академия наук, Россия, 450054, Уфа, просп. Октября, 71.
e-mail: newpharm@anrb.ru

Изучена мнестическая и противогипоксическая активность новых производных хинолизидинового алкалоида (—)-цитизина при выработке условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) у крыс и нормобарической (баночной) гипоксии у мышей. В результате скрининга установлено, что бензамид и *N*-(12-метилцитизин-3-ил)-*N′*-фенилмочевина не только улучшают обучение и память, но и повышают устойчивость мозга к гипоксии.

Ключевые слова: (—)-цитизин; ноотропная активность; условный рефлекс пассивного избегания; противогипоксические свойства.

В современном социуме на фоне частых стрессов и перегрузок неврологические расстройства диагностируются у 50 – 75 % населения [1]. Одним из компонентов комплексной терапии неврологических дисфункций являются ноотропные препараты. Их назначают при сосудистых заболеваниях головного мозга, инсультах, хронической цереброваскулярной недостаточности (включая сосудистую деменцию), при черепно-мозговых травмах, поражениях мозга нейродегенеративного характера, болезни Альцгеймера, нарушениях функций головного мозга, вызванных алкоголизмом, острых нейроинфекциях [2].

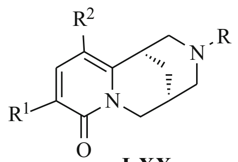
Несмотря на определенные успехи, достигнутые в последние годы в области создания лекарственных средств, для лечения неврологических заболеваний, связанных с ишемией головного мозга и сопровождающихся нарушением мнестических функций, большинство существующих лекарственных средств (по данным многоцентровых клинических исследований), хотя и улучшают неврологический исход, но не снижают смертность при таких заболеваниях [3]. Создание новых высокоэффективных, безопасных, экономически доступных и удобных в применении лекарственных средств, для профилактики и лечения неврологических состояний является одним из путей решения этой острой проблемы [4].

В качестве новой группы эффективных средств для лечения когнитивных расстройств позиционируются производные хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина (**I**) [5 – 7]. Целью настоящей работы является изучение ноотропной активности в ряду производных этого алкалоида **II – XIX** (рис. 1).

Экспериментальная часть

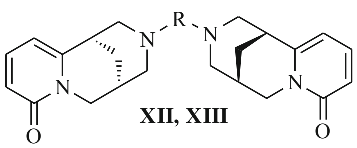
Соединения **II – XIX** получены согласно [8 – 14].

Исследование выполнено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, что подтверждено заключением локального этического комитета ИОХ УНЦ РАН от 11.06.2013.



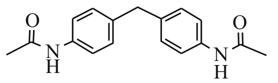
I-XX

R^1 = H, R^2 = H, R = H (**I**),
R^1 = H, R^2 = H, R = Me (**II**),
R^1 = H, R^2 = H, R = All (**III**),
R^1 = H, R^2 = H, R = Bn (**IV**),
R^1 = H, R^2 = H, R = Bz (**V**),
R^1 = H, R^2 = H, R = Antraniloyl (**VI**),
R^1 = H, R^2 = H, R = Nicotinoyl (**VII**),
R^1 = H, R^2 = H, R = (CO)NH_2 (**VIII**),
R^1 = H, R^2 = H, R = (CO)NHAll (**IX**),
R^1 = H, R^2 = H, R = (CO)NHPh (**X**),
R^1 = H, R^2 = H, R = (CO)NHAd (**XI**),
R^1 = NH_2, R^2 = H, R = Me (**XIV**),
R^1 = NH(CO)NHAll, R^2 = H, R = Me (**XIV**),
R^1 = NH(CO)NHPh, R^2 = H, R = Me (**XVI**),
R^1 = H, R^2 = NH_2, R = Me (**XVII**),
R^1 = H, R^2 = NH(CO)NHAll, R = Me (**XVIII**),
R^1 = H, R^2 = NH(CO)NHPh, R = Me (**XIX**).



XII, XIII

R = -$(CH_2)_6$- (**XII**)

R =  (**XIII**)

Структурные формулы производных хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина.

Эксперименты проведены на 168 крысах линии Вистар массой 170 – 200 г и 140 беспородных мышах массой 18 – 20 г. Все исследуемые соединения в скрининговой дозе 50 мкмоль/кг (среднее значение согласно литературным данным [15 – 17] в пересчете на пероральный способ введения) и препарат сравнения пирацетам (Piracetamum, Озон ООО, Россия) в дозе 400 мг/кг (ED_{50}) [18] вводили за 1 ч до начала эксперимента.

Влияние веществ на обучаемость исследовали при выработке условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) у крыс с использованием автоматизированной системы LE 870 (Panlab). Метод состоял из 2 этапов: обучение навыку и воспроизведение его сохранности. В первый день эксперимента отмечали следующие показатели: латентный период первого захода и количество заходов в темный отсек экспериментальной камеры. Воспроизведение навыка УРПИ осуществляли через 24 ч после обучения — регистрировали латентный период первого захода, количество заходов в темный отсек, а также общее время нахождения в темном отсеке [19].

Улучшение запоминания (мнестическую активность в %) вычисляли по формуле:

$$M_t = [(t_k - t_{оп})/t_k] \cdot 100\ \%,$$

где M_t — мнестическая активность (%); t_k — среднее время пребывания в темном отсеке животных контрольной группы; $t_{оп}$ — среднее время пребывания в темном отсеке животных опытной группы [20].

Противогипоксические свойства изучены на мышах на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Животные одинаковой массы помещали по одному в герметически закрываемые банки объемом 250 см^3. Регистрировали время выживания (резервное время) животных в условиях гипоксии и высчитывали процент увеличения резервного времени относительно контроля [19]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента по [21].

Результаты и их обсуждение

Показано, что на второй день эксперимента при воспроизведении навыка УРПИ все исследуемые соединения при однократном введении уменьшали время нахождения животных в темном отсеке по сравнению с контролем (табл. 1). Среди 18 синтезированных производных (–)-цитизина наибольшую активность проявили соединения, замещенные по 12 атому азота: так, соединения **V**, **VII** и **X** превосходили контроль по мнестическому эффекту более чем на 90 %. Соединения **IX**, **XII**, **XV** и **XIX** проявили мнестический эф-

Таблица 1

Влияние соединений ряда (–)-цитизина на обучаемость крыс при выработке УРПИ

Соединение	Время нахождения в темной камере, с	Мнестический эффект, %
Контроль интактный	210,08 ± 3,45	-
Пирацетам	59,45 ± 5,21*	71,7
I	197,33 ± ,51	6,07
Производные (–)-цитизина, замещенные по атому 12 азота		
II	83,19 ± 23,63*	60,4
III	89,28 ± 43,01#	57,5
IV	186,34 ± 31,64	11,3
V	4,56 ± 3,15*	97,8*
VI	165,75 ± 11,8**	21,1
VII	1,68 ± 0,09*	99,2*
VIII	145,38 ± 11,70*	30,8
IX	59,66 ± 3,67*	71,6
X	15,55 ± 2,70*	92,6*
XI	177,94 ± 39,61	15,3
XII	52,10 ± 3,90*	75,2
XIII	209,91 ± 45,10	0,08
Производные 3-амино-12-*N*-метилцитизина		
XIV	101,23 ± 7,23*	51,8
XV	54,62 ± 1,35*	74,0
XVI	121,01 ± 9,02*	42,4
Производные 5-амино-12-*N*-метилцитизина		
XVIII	121,85 ± 27,7**	42,0
XIX	40,40 ± 22,30*	80,8*

Достоверно по сравнению с контролем: * $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; # $p < 0,05$.

Таблица 2

Время выживания мышей в условиях нормобарической гипоксии с гиперкапнией

Соединение	Время выживания, мин	Увеличение резервного времени, %
Контроль интактный	36,72 ± 0,98	-
Пирацетам	40,77 ± 0,90**	11,03
I	38,67 ± 2,47	5,31
Производные (—)-цитизина, замещенные по 12 атому азота		
II	44,43 ± 1,87**	21,0**
III	36,17 ± 0,68	– 1,50
IV	43,59 ± 2,72#	18,71
V	53,43 ± 3,32*	45,51*
VIII	41,09 ± 0,85**	11,9
IX	34,66 ± 2,86	– 5,61
X	36,02 ± 2,60	– 1,91
XI	45,45 ± 0,92*	23,78*
XII	37,38 ± 4,42	1,8
XIII	41,42 ± 0,67**	12,80
Производные 3-амино-12-*N*-метилцитизина		
XIV	39,29 ± 2,89	7,0
XV	47,99 ± 2,89#	30,69#
XVI	40,65 ± 3,40	10,7
Производные 5-амино-12-*N*-метилцитизина		
XVIII	36,77 ± 1,49	0,13
XIX	36,38 ± 1,70	– 0,93

Достоверно по сравнению с контролем: * $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; # $p < 0,05$.

фект более 70 %, что сравнимо с активностью пирацетама.

Таким образом, в данной серии экспериментов из 18 производных (–)-цитизина было выявлено 4 соединения — **V**, **VII**, **X**, **XIX**, проявляющих выраженную мнестическую активность ($M_t > 80$ %), превосходящую таковую у пирацетама (71,7 %) (табл. 1).

Эксперименты по изучению противогипоксической активности производных (–)-цитизина **II** – **XIX** на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией выявили отчетливый защитный эффект соединения **V**, что выражалось в увеличении резервного времени выживания относительно контроля на 45 % (табл. 2).

Соединения **II**, **V**, **XI**, **XV** увеличивали время выживания по сравнению с контролем в среднем на 20 %, что было почти в 2 раза выше аналогичных показателей для пирацетама (табл. 2).

Остальные соединения обладали или незначительным противогипоксическим эффектом, или его не проявляли.

Таким образом, установлено, что среди изученных производных (–)-цитизина соединения **V** и **XV** не только улучшают память и способность лабораторных животных к обучению, но и повышают устойчивость мозга к гипоксии, что характерно для ноотропных препаратов смешанного действия, при котором мнестический эффект дополняется другими, не менее значимыми проявлениями действия (противогипоксическим, анксиолитическим и др.).

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 12-03-00724-а, и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН "Фундаментальные науки – медицине".

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Удут, А. И. Венгеровский, Н. И. Суслов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **46**(8), 27 – 29 (2012); *Pharm. Chem. J.*, **46**(8), 492 – 494 (2012).
2. B. Winblad, *CNS Drug Rev.*, **11**, 169 (2005).
3. Р. Г. Глушков, С. Д. Южаков, М. В. Алексеев и др., *Хим.-фарм. журн.*, **45**(3), 3 – 8 (2011); *Pharm. Chem. J.*, **45**(3), 131 – 136 (2011).
4. P. M. Joyner, R. H. Cichewicz, *Nat. Prod. Rep.*, **28**, 26 – 47 (2011).
5. Y. S. Mineur, O. Somenzi, M. R. Picciotto, *Neuropharmacology*, **52**, 1256 – 1262 (2007).
6. B. Ferger, C. Spratt, P. Teismann, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **360**, 155 – 163 (1998).
7. E. G. Perez, C. Mendez-Galvez, B. K. Cassels, *Nat. Prod. Rep.*, **29**, 555 – 567(2012).
8. C. C. Boido, F. Sparatore, *Farmaco*, **54**, 438 – 451 (1999).
9. O. Nicolotti, C. C. Boido, F. Sparatore, A. Carotti, *Farmaco*, **57**, 469 – 478 (2002).
10. A. K. Przybyl, M. Kubicki, *Molec. Structure*, **985**, 157 – 166 (2011).
11. И. П. Цыпышева, А. В. Ковальская, Н. С. Макара и др., *Химия природ. соедин.*, **4**, 565 (2012).
12. И. П. Цыпышева, А. В. Ковальская, А. Н. Лобов и др., *Химия природ. соедин*, **4**, 606 (2013).
13. I. P. Tsypysheva, A. V. Koval'skaya, A. N. Lobov, et al., *Chem. Nat. Comp.*, **4**, 707 – 711 (2013).
14. Ю. В. Вахитова, И. П. Цыпышева, М. Х. Салимгареева и др., *Химия природ. соедин.*, **3**, 430 – 434 (2014).
15. T. W. Seale, R. Nael, S. Singh, et al., *Neuroreport*, **9**(2), 201 – 205 (1998).
16. P. Tutka, T. Mroz, J. Bendarski, et al., *Pharmacol. Reports*, **65**, 195 – 200 (2013).
17. C. S. Cunningham, L. R. McMahon, *Eur. J. Pharmacol.*, **654**, 45 – 52 (2011).
18. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Т. 2, Медицина, Москва (2000).
19. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. и др. (ред.), Министерство здравоохранения и соцразвития РФ, ФГБУ "Научный центр экспертизы средств медицинского применения", Москва (2012).
20. Р. У. Островская, Т. А. Гудашева, С. С. Трофимова, А. П. Сколдинов, *Фармакология ноотропов (экспериментальное и клиническое изучение)*, Москва (1989), сс. 26 – 35.
21. М. Л. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, Медицинская литература, Ленинград (1963).

Поступила 18.02.14

NEW DERIVATIVES OF (-)-CYTISINE WITH NOOTROPIC ACTIVITY

N. S. Makara, S. F. Gabdrakhmanova, T. A. Sapozhnikova, R. Yu. Khisamutdinova, A. V. Koval'skaya, I. P. Tsypysheva, F. S. Zarudii, and M. S. Yunusov

Institute of Organic Chemistry, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Tatarstan, 450054 Russia;
e-mail: newpharm@anrb.ru

The cognitive (learning and memory) enhancement and antihypoxic activities of new derivatives of (-)-cytisine have been investigated on experimental models of passive avoidance in rats and normobaric (jar) hypoxia in mice. The pharmacological screening showed that cytisine benzamide and N-(12-methylcytisin-3-yl)-N′-phenylurea not only improve the learning and memory, but also increase the resistance of brain to hypoxia.

Keywords: (-)-cytisine; nootropic activity; passive avoidance conditioned reflex; antihypoxic properties.