

Л. А. Жмуренко, С. А. Литвинова, Г. В. Мокров, И. Г. Ковалев,
Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, Т. А. Гудашева

СИНТЕЗ, ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ И НООТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ФЕНИЛПИРРОЛИДОНА

ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.
* e-mail: g.mokrov@gmail.com

Представлен дизайн новых производных 4-фенилпирролидона на базе структур рацетамов, сочетающих ноотропное и противосудорожное действие. Осуществлен синтез соединений предложенной группы с использованием 4-фенилпирролидона и ароматических аминов. Изучена противосудорожная активность новых веществ и проведен анализ связи структура — действие. Наиболее выраженную активность проявляет 2,6-диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты в дозах 2,5 – 5,0 мг/кг, который во всех тестах превосходит препарат сравнения левитирацетам в дозах 2,5 – 600 мг/кг и обладает отчетливой ноотропной активностью, сопоставимой с активностью эталонного ноотропного препарата пирацетама в дозе 400 мг/кг.

Ключевые слова: 4-фенилпирролидоны; противосудорожная активность; ноотропная активность; тест максимального электрошока; тест антагонизма с коразолом.

Распространенность эпилепсии в разных странах, по данным ВОЗ, варьирует от 1,5 до 50 случаев на 1000 человек населения [1 – 3]. В Российской Федерации распространенность эпилепсии составляет 2,98 на 1000 человек населения [4]. Лечение эпилепсии осуществляется, главным образом, противоэпилептическими препаратами (ПЭП) и проводится непрерывно в течение многих лет, а иногда и всей жизни больного [5]. Однако эффективность противосудорожной терапии все еще остается неудовлетворительной и в 20 – 30 % случаев судороги не поддаются контролю основными ПЭП. Наряду с этим, ПЭП обладают различными нежелательными побочными эффектами [5].

В ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” ведутся работы по поиску новых средств для лечения эпилепсии в различных химических группах [6 – 8]. В настоящей работе представлены результаты исследования по синтезу и изучению соединений с потенциальной противосудорожной активностью в ряду производных 4-фенилпирролидонов.

Среди производных пирролидона известны соединения, обладающие выраженной противосудорожной активностью. Это препарат левитирацетам, который широко применяется в терапии судорожных состояний [9], и его аналоги бриварацетам [10] и селтрацетам [11] (рис. 1).

Конструирование целевых соединений осуществляли при помощи фармакофорного подхода. При этом были использованы структуры известных препаратов, относящихся к классу рацетамов. Известно, что основным эффектом препаратов группы рацетамов является ноотропное действие, однако у некоторых представителей этого класса, например, фенотропила [12] и нефирацетама [13] (рис. 2), наблюдается выраженная противосудорожная активность.

В ходе конструирования новой группы соединений в ряду пирролидонов нами было учтено 2 наблюдения:

1. Введение фенильного заместителя в пирролидоновый цикл молекулы пирацетама приводило к появлению противосудорожной активности с сохранением ноотропного действия.

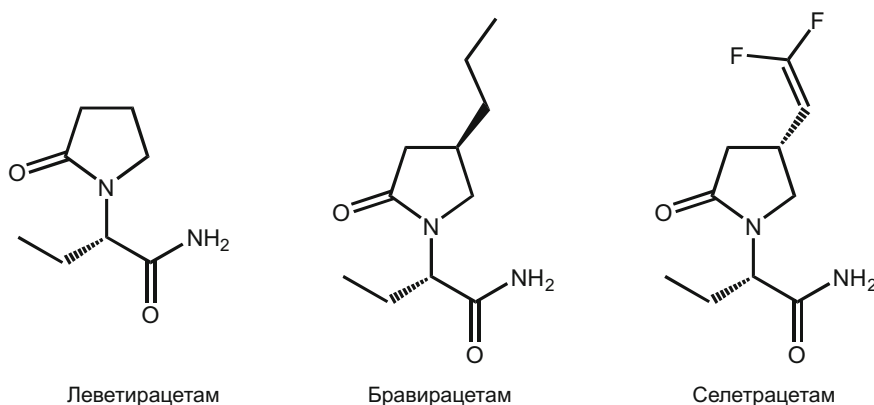
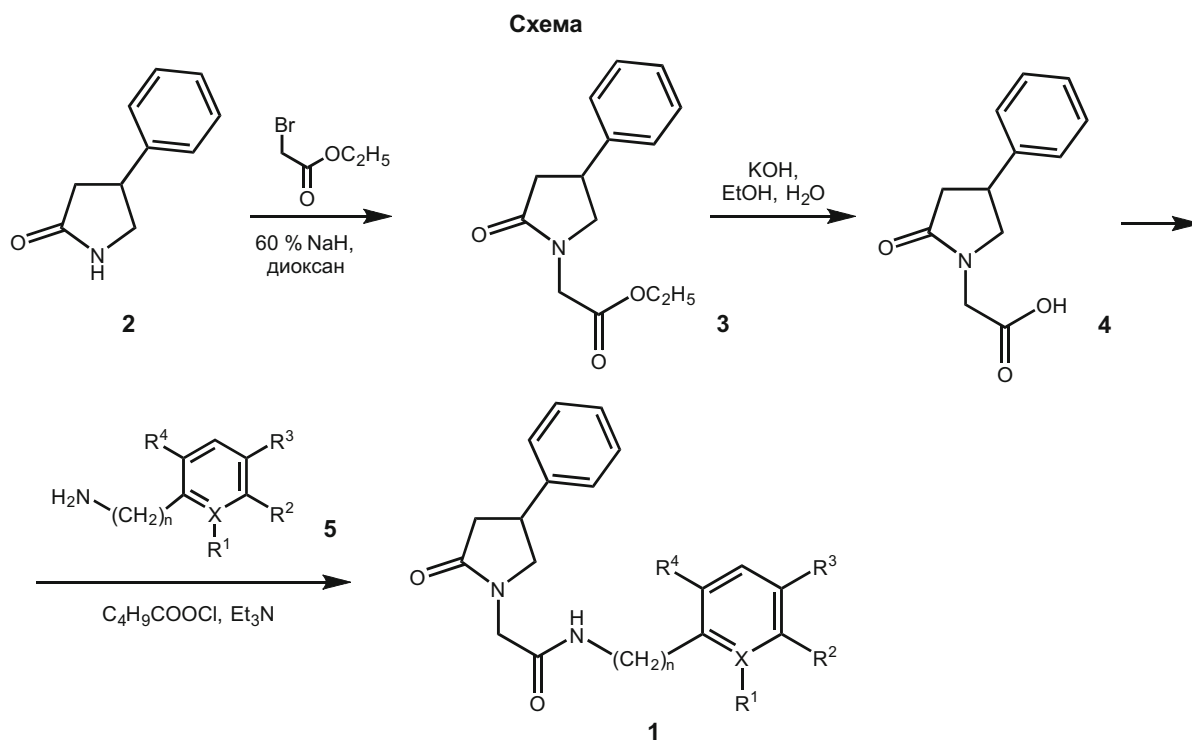


Рис. 1. Структуры производных пирролидона, обладающих противосудорожной активностью.



Соединение	X	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
1a	CH	0	CH ₃	H	H	CH ₃
1б	CH	0	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃
1в	CH	0	CH ₃	H	H	H
1г	CH	0	OCH ₃	H	H	H
1д	CH	0	H	CF ₃	H	H
1е	N	0	H	H	H	H
1ж	CH	1	H	H	H	H

2. Введение диметилфенильной группы в амидную группу пиррацетама также приводило к наличию антиэпилептического действия у нефирацетама с основным ноотропным эффектом.

На основании этих наблюдений нами была выдвинута гипотеза о том, что введение обоих ароматических фармакофоров и в пирролидоновый цикл, и в амидный фрагмент пиррацетама приведет к усилению противосудорожного эффекта. При этом предполагалось полное или частичное сохранение ноотропной активности соответствующих молекул.

Экспериментальная химическая часть

Синтез целевых соединений осуществляли по следующей общей схеме.

4-Фенилпирролидон-2 (**2**) вводят во взаимодействие с этиловым эфиром бромуксусной кислоты в полярном апротонном растворителе, например, диоксане или тетрагидрофуране, в присутствии сильных оснований, например, гидридов щелочных металлов, при температуре от комнатной до 120 °С, в результате чего получают этиловый эфир 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (**3**). Соединение **3** гидролизуют действием щелочи в водно-спиртовых растворах, что приводит к образованию 4-фенил-2-оксопирроли-

дин-1-уксусной кислоты (**4**). Кислоту **4** вводят во взаимодействие с аминами **5** в органических растворителях, таких как, например, бензол, толуол, хлористый метилен, в присутствии триэтиламина и конденсирующего агента — изобутилхлорформиата, что приводит к образованию производных (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты общей формулы **1**.

Соединения **1** представляют собой белые твердые кристаллические вещества, нерастворимые в воде, растворимые в некоторых органических растворителях, таких как спирт, хлороформ, диметилсульфоксид (ДМСО). Строение веществ общей формулы **1** подтверждены данными спектров ЯМР ¹H, а их чистота — данными элементного анализа.

Спектры ЯМР ¹H регистрировали на спектрометре Bruker AC-250 в растворах ДМСО-d₆, используя в качестве внутреннего стандарта сигналы остаточных протонов растворителей (δ 2,50 м.д.). Температуры плавления определяли на столике Кофлера и не корректировали. Контроль за ходом реакций и индивидуальностью полученных веществ осуществляли методом ТСХ в системе хлороформ — метанол (9:1 или 9,5:0,5) на пластинках Kieselgel 60 F254, с обнаружением в УФ-свете.

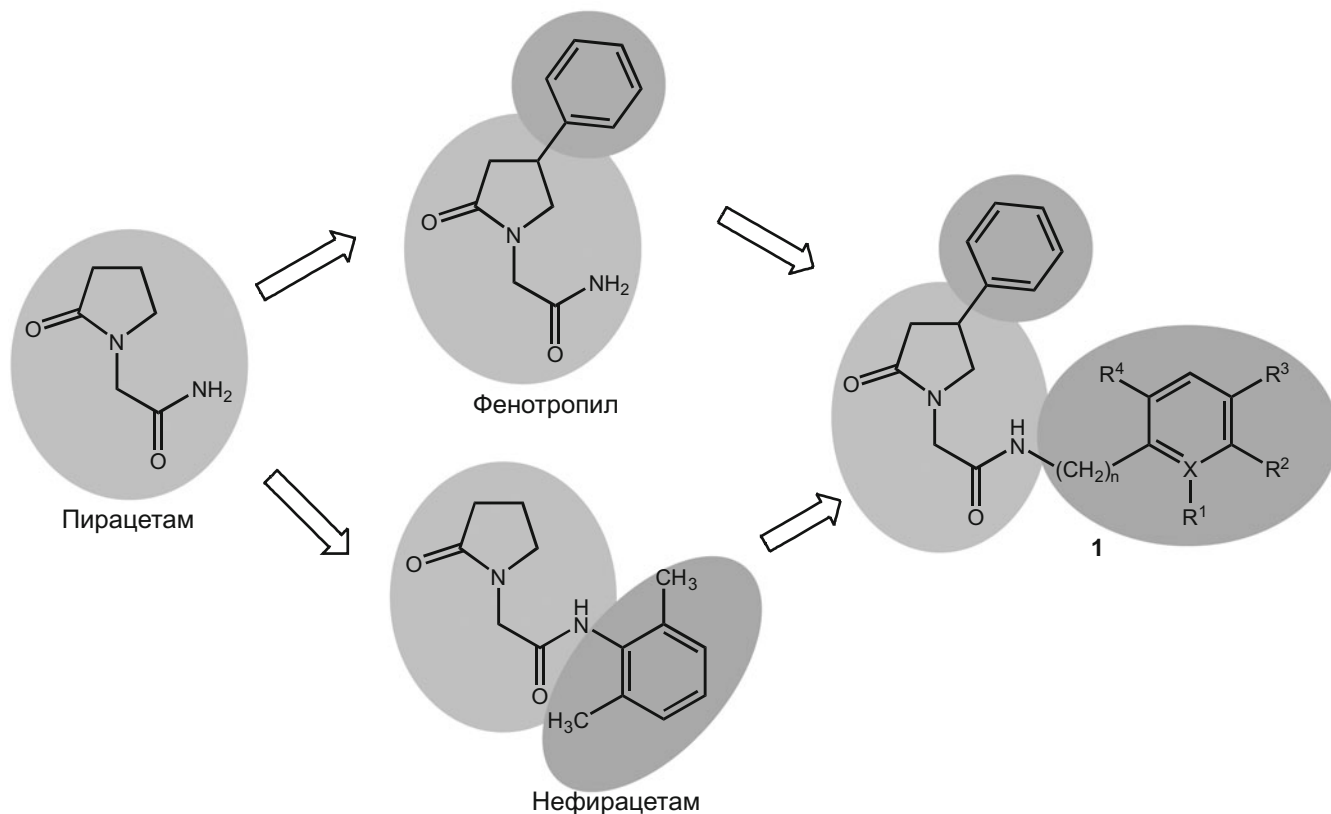


Рис. 2. Конструирование новой группы с использованием структур известных рацетамов.

2,6-Диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (1а). К раствору 30 ммоль (6,57 г) 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (4) [14] и 30 ммоль (3,03 г) триэтиламина в 200 мл безводного толуола по каплям прибавляют раствор 30 ммоль (4,10 г) изобутилхлорформиата в 15 мл безводного толуола при перемешивании при температуре $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, после чего к ней прибавляют по каплям раствор 30 ммоль (3,63 г) 2,6-диметиланилина в 15 мл толуола при перемешивании при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивают в течение 1 ч при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выливают в 150 мл воды. К смеси добавляют 40 мл 5 % раствора гидрокарбоната натрия и перемешивают. Органический раствор отделяют и промывают 2 раза по 80 мл 5 % раствора гидрокарбоната натрия и 2 раза по 100 мл воды, сушат над сульфатом магния и упаривают досуха. Остаток растирают под диэтиловым эфиром и отфильтровывают образовавшийся осадок, получая 5,2 г 2,6-диметиланилида 2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил уксусной кислоты (1а) в виде белого порошка (выход 54 %). $T_{\text{пл}}$ $115 - 116\text{ }^{\circ}\text{C}$ (из смеси бензол — петролейный эфир). $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$. ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 2,12 (с, 6 H, 2 CH_3); 2,43 (дд, 1 H, H(3a), ^2J 16,4 Гц, ^3J 8,6 Гц); 2,73 (дд, 1 H, H(3b), ^2J 16,4 Гц, ^3J 9,0 Гц); 3,49 и 3,84 (два м, по 1 H, (5) CH_2); 3,65 (м, 1 H, H(4)); 4,03 и 4,14 (два д, по 1 H, CH_2CO , ^2J 16,4 Гц); 7,06 (с, 3 H, Ar); 7,20 – 7,40 (м, 5 H, Ph); 9,36 (с, 1 H, NH).

2,4,6-Триметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (1б). Получают аналогично 1а из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (4) и 2,4,6-триметиланилина. Выход 60 % (белый порошок). $T_{\text{пл}}$ $135 - 136\text{ }^{\circ}\text{C}$ (из этилацетата). $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$. ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 2,07 (с, 6 H, 2 CH_3); 2,21 (с, 3 H, CH_3); 2,44 и 2,72 (два м, по 1 H, (3) CH_2); 3,48 и 3,83 (два м, по 1 H, (5) CH_2); 3,64 (м, 1 H, H(4)); 4,05 и 4,12 (два д, по 1 H, CH_2CO , ^2J 16,7 Гц); 6,86 (с, 2 H, Ar); 7,17 – 7,35 (м, 5 H, Ph); 9,28 (с, 1 H, NH).

2-Метиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты (1в). Получают аналогично 1а из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (4) и 2-метиланилина. Выход 43 % (белый порошок). $T_{\text{пл}}$ $100 - 101\text{ }^{\circ}\text{C}$ (из смеси бензол — петролейный эфир). $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$. ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 2,13 (с, 3 H, CH_3); 2,42 (дд, 1 H, H(3a), ^2J 16,6 Гц, ^3J 8,5 Гц); 2,74 (дд, 1 H, H(3b), ^2J 16,6 Гц, ^3J 8,8 Гц); 3,48 и 3,83 (два м, по 1 H, (5) CH_2); 3,64 (м, 1 H, H(4)); 4,08 и 4,17 (два д, по 1 H, CH_2CO , ^2J 16,8 Гц); 7,00 – 7,40 (м, 9 H, Ph, Ar); 9,45 (с, 1 H, NH).

2-Метоксианилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (1г). Получают аналогично 1а из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (4) и 2-метоксианилина. Выход 53 % (белый порошок). $T_{\text{пл}}$ $94 - 95\text{ }^{\circ}\text{C}$ (из смеси этилацетат — гептан). $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$. ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 2,41 (дд, 1 H, H(3a), ^2J 16,6 Гц, ^3J 8,5 Гц); 2,74 (дд, 1 H, H(3b), ^2J 16,6 Гц, ^3J 9,0 Гц); 3,48 (дд, 1 H, H(5a), ^2J 8,5 Гц, ^3J

8,9 Гц); 3,81 (дд, 1 Н, Н(5b), ^2J 8,5 Гц, ^3J 8,5 Гц); 3,83 (с, 3 Н, OCH_3); 3,62 (м, 1 Н, Н(4)); 4,11 и 4,90 (два д, по 1 Н, CH_2CO , ^2J 17,0 Гц); 6,89 – 7,93 (м, 4 Н, Ar); 7,50 – 7,80 (м, 5 Н, Ph); 9,36 (с, 1 Н, NH).

3-Трифторметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (1д). Получают аналогично **1а** из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (**4**) и 3-трифторметиланилина. Выход 54 % (белый порошок). $T_{\text{пл}}$ 160 – 161 °С (из смеси этилацетат — гептан). $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$. ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 2,43 (дд, 1 Н, Н(3a), ^2J 16,8 Гц, ^3J 8,3 Гц); 2,75 (дд, 1 Н, Н(3b), ^2J 16,8 Гц, ^3J 8,8 Гц); 3,47 (дд, 1 Н, Н(5a), ^2J 8,5 Гц, ^3J 8,5 Гц); 3,84 (дд, 1 Н, Н(5b), ^2J 8,5 Гц, ^3J 8,5 Гц); 3,64 (м, 1 Н, Н(4)); 4,10 и 4,17 (два д, по 1 Н, CH_2CO , ^2J 16,8 Гц); 7,20 – 8,15 (м, 9 Н, Ph, Ar); 10,47 (с, 1 Н, NH).

Пирид-2-иланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (1е). Получают аналогично **1а** из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (**4**) и 2-аминопиридина. Выход 44 % (белый порошок). $T_{\text{пл}}$ 140 – 141 °С (из этилацетата). $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$. ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 2,41 (дд, 1 Н, Н(3a), ^2J 16,6 Гц, ^3J 8,5 Гц); 2,75 (дд, 1 Н, Н(3b), ^2J 16,6 Гц, ^3J 8,8 Гц); 3,46 (дд, 1 Н, Н(5a), ^2J 8,5 Гц, ^3J 8,5 Гц); 3,82 (дд, 1 Н, Н(5b), ^2J 8,5 Гц, ^3J 8,5 Гц); 3,63 (м, 1 Н, Н(4)); 4,14 и 4,22 (два д, по 1 Н, CH_2CO , ^2J 16,8 Гц); 7,10 – 8,31 (4 м, по 1 Н, Py); 7,50 – 8,02 (м, 5 Н, Ph); 10,65 (с, 1 Н, NH).

Бензиламид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (1ж). Получают аналогично **1а** из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (**4**) и

бензиламина. Выход 42 % (белый порошок). $T_{\text{пл}}$ 91 – 92 °С (из смеси бензол — гептан). $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$. ЯМР ^1H (ДМСО, δ , м.д.): 2,40 (дд, 1 Н, Н(3a), ^2J 16,6 Гц, ^3J 8,5 Гц); 2,71 (дд, 1 Н, Н(3b), ^2J 16,6 Гц, ^3J 8,8 Гц); 3,44 (м, 1 Н, Н(5a)); 3,62 (м, 1 Н, Н(4)); 3,77 (м, 1 Н, Н(5b)); 3,94 (с, 2 Н, CH_2Ph); 4,30 (д, по 1 Н, CH_2CO , ^2J 5,6 Гц); 7,20 – 7,38 (м, 10 Н, Ph); 8,49 (т, 1 Н, NH, ^3J 5,6 Гц).

Экспериментальная биологическая часть

Исследование противосудорожных свойств производных 4-фенилпирролидона проводили на животных, полученных из питомника “Столбовая” (Московская область), которых содержали в виварии в одинаковых условиях обитания и кормления (стандартный брикетированный корм). С животными работали в соответствии с действующими “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных” и “Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных”.

Изучение противосудорожной и ноотропной активности соединений проводили в соответствии с Методическими указаниями, изложенными в “Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств” [15, 16].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и BioStat 2009 (Analyst Soft Inc.). Нормальность распределения данных определя-

Таблица 1

Противосудорожное действие производных 4-фенилпирролидона и леветирацетам в тесте антагонизма с коразолом в эксперименте на мышах

Соединение	Доза соединения, мг/кг, внутрибрюшинно	ЛП первого клонического приступа, мин	Процент мышей без судорог	Процент выживших животных
Контроль	-	2,2 ± 0,12	16	16
1а + коразол	1,0	1,8 ± 0,3	16,7	33
	2,5	2,00 ± 0,29	33	66
	5	3,30 ± 0,20*	33	83,3 [#]
	10	4,82 ± 0,28*	0	33
1б + коразол	5	2,5 ± 0,31	0	0
1в + коразол	2,5	2,80 ± 0,20	0	0
	5	2,93 ± 0,23	0	0
	10	2,17 ± 0,28	0	0
1г + коразол	2,5	3,61 ± 0,29*	0	0
	5	4,54 ± 0,44*	0	12,5
	10	4,34 ± 0,35*	0	0
1д + коразол	2,5	3,65 ± 0,37*	0	0
	5	3,40 ± 0,40	0	0
	10	2,36 ± 0,38	0	0
1ж + коразол	2,5	1,52 ± 0,11	0	0
	5	3,04 ± 0,21*	0	0
	10	1,82 ± 0,13	0	0
Леветирацетам + коразол	2,5	2,71 ± 0,32	0	0
	600	3,22 ± 0,03*	0	33

* Достоверность отличий от группы контроля при $p < 0,05$ (критерий Стьюдента).

[#] Достоверность отличий от группы контроля при $p \leq 0,05$ (точный критерий Фишера).

ли по критерию Шапиро — Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев Крускала — Уоллиса и точного критерия Фишера. ЛД₅₀ рассчитывали методом пробит-анализа (метод Финни) с помощью программного пакета Statplus V5.

Противосудорожное действие производных 4-фенилпирролидона на модели первично-генерализованных судорог, вызванных коразолом. Эксперименты проводили на белых беспородных мышках-самцах массой 20–26 г. Каждую дозу соединения исследовали на 8–10 животных. Тест антагонизма с коразолом является важнейшей методикой при оценке действия веществ с противосудорожной активностью [15, 17]. В этой методике судороги вызываются химическим воздействием и моделируют первично-генерализованные судороги при так называемых “малых” (Petit mal) судорожных припадках.

Для получения судорожного припадка животным подкожно в область шейного отдела спины вводили антагонист ГАМК-А рецептора коразол (пентилентетразол, Sigma-Aldrich, США) в дозе 90 мг/кг. Затем за животными наблюдали в течение 60 мин. Регистрировали латентный период (ЛП) первого генерализованного приступа клонических судорог с потерей рефлекса переворачивания, число мышечных судорог и число погибших животных.

Таблица 2
Противосудорожное действие производных 4-фенилпирролидона и леветирацетама в тесте МЭШ в эксперименте на мышках

Группа	Доза соединения, мг/кг, внутривенно	Животные без тонической экстензии, %	Выжившие животные, %
Контроль МЭШ		0	20
1а + МЭШ	0,5	0	20
	1,0	10	40
	2,5	30	60*
	5,0	20	50
	10	0	10
1б + МЭШ	2,5	20	62,5
	5	20	75*
	50	0	43
1в + МЭШ	2,5	0	0
	5	0	0
	10	0	0
1г + МЭШ	2,5	0	0
	5	0	33
	10	0	0
1д + МЭШ	2,5	0	16,7
	5	0	0
	10	0	0
1ж + МЭШ	2,5	0	0
	5	0	16,7
	10	0	0
Леветирацетам + МЭШ	2,5 600	0 10	0 40

* Значимость отличий от контрольной группы при $p \leq 0,05$ (точный критерий Фишера).

Исследуемые соединения, растворенные в физиологическом растворе, вводили однократно внутривенно в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела мыши за 40 мин до коразола. Контрольным животным внутривенно вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Противосудорожное действие производных 4-фенилпирролидона на модели первично-генерализованных судорог, вызванных максимальным электрошоком. Эксперименты проводили на белых беспородных мышках-самцах массой 21–27 г. Каждую дозу соединения исследовали на 8–10 животных. Методика максимального электрошока (МЭШ) моделирует первично-генерализованные судороги — так называемые “большие” (Grant mal) судорожные припадки и является базисным тестом при оценке действия веществ с противосудорожной активностью как в России, так и за рубежом [15, 18, 19].

Максимальный электросудорожный припадок (МЭШ) создавали с использованием сертифицированной установки “Rodent Shocker RS”, type 221 (Harvard Apparatus, GmbH, Германия). Животные получали через специальные корневые электроды электрические стимулы (100 МА, 50 Гц, длительностью 0,3 с). Регистрировали следующие показатели: тоническую экстензию задних и передних конечностей, а затем — клонические судороги и гибель животных. Противосудорожный эффект соединений оценивали по способности предупреждать развитие тонической экстензии, клонических судорог и гибель животных.

Соединения, растворенные в физиологическом растворе, вводили животным однократно внутривенно в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела мыши за 40 мин до проведения МЭШ. Контрольным животным внутривенно вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Таблица 3
Влияние соединения 1а в сравнении с леветирацетамом и пирацетамом на обучение (1-й день) и воспроизведение пространственного навыка (через 48 ч после обучения) в водном лабиринте Морриса

Группа животных	Обучение	Воспроизведение через 48 ч
	среднее время нахождения платформы, с	время пребывания в секторе, где находилась платформа, с
Контроль (физиологический раствор), $N = 8$	$35,2 \pm 7,07$	$9,71 \pm 1,43$
1а 2,5 мг/кг, $N = 8$	$19,5 \pm 5,57^*$	$15,88 \pm 1,36^*$
1а 5 мг/кг, $N = 8$	$17,8 \pm 5,22^*$	$17,25 \pm 2,07^*$
Леветирацетам 600 мг/кг, $N = 8$	$33,6 \pm 7,77$	$14,14 \pm 1,74^*$
Пирацетам 400 мг/кг, $N = 8$	$21,9 \pm 5,04^*$	$17,14 \pm 0,9^*$

* Достоверность различий с контролем при $p > 0,05$. N — число животных в группе.

Ноотропное действие производных 4-фенилпирролидона в тесте пространственной памяти в водном лабиринте Морриса. Исследование влияния веществ на процессы обучения и памяти проводили в эксперименте на белых беспородных мышках массой 23 – 26 г в водном лабиринте Морриса [20] в модификации Frick [21], когда животное обучается избеганию принудительного плавания при нахождении платформы. В исследовании использована сертифицированная установка TS1004-M2 “Водный лабиринт (тест) Морриса” для крыс и мышей ООО “НПК Открытая Наука”. Бассейн для воды изготовлен из полипропилена и установлен на стальную подставку с регулируемыми опорами. Цвет бассейна белый. Размеры бассейна: диаметр арены — 150 см, высота стенок — 60 см, диаметр платформы — 10 см. Платформа (остров) регулируется по высоте, выполнена из белого акрила с металлическим утяжелителем. Бассейн наполняли водой комнатной температуры (24 ± 2) °С, забеленной молоком, на 40 см. Бассейн зрительно делили на 4 сектора и в одном и том же секторе (называемом “целевым”) помещали платформу.

Исследуемые вещества вводили внутривентриально за 30 мин до начала эксперимента трижды: в первый и во второй дни обучения и перед воспроизведением навыка. 1-й группе (контрольной) вводили физиологический раствор, 2-й группе — соединение **1a** в дозе 2,5 мг/кг, 3-й группе — соединение **1a** в дозе 5 мг/кг, 4-й группе — леветирацетам в дозе 600 мг/кг, 5-й группе — парацетам в дозе 400 мг/кг.

Регистрировали время, в течение которого животное находилось в квадранте, где в дни обучения располагалась платформа, что служило показателем эффективности обучения и воспроизведения пространственного навыка.

Острая токсичность производного 4-фенилпирролидона (1a). Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 210 – 250 г, которых содержали в виварии в одинаковых условиях обитания и кормления (стандартный брикетированный корм). В каждой группе было по 5 животных.

Соединение **1a** вводили однократно внутривентриально в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг. Регистрацию гибели животных проводили через 1, 24, 48 ч и 5 сут после введения.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что у контрольных животных после введения коразола в дозе 90 мг/кг латентный период (ЛП) первого генерализованного приступа с потерей рефлекса переворачивания составил 2,2 мин, генерализованные клонические судороги передних и задних конечностей с утратой рефлекса переворачивания наблюдались у 86 % мышей, и гибель животных также составила 86 % (табл. 1). Соединение **1a** статистически достоверно увеличивало латентный период первого генерализованного судорожного приступа: в дозе 5 мг/кг — в 1,5 раза, а в дозе 10 мг/кг — в 2,2 раза, по

сравнению с контрольной группой. Наряду с этим, соединение **1a** в дозе 5 мг/кг статистически достоверно увеличивало (до 83,3 %) число выживших животных (в контроле 16 %). Соединение **1g** статистически достоверно увеличивало по сравнению с контролем латентный период первого генерализованного судорожного приступа: в дозах 2,5, 5 и 10 мг/кг. Соединение **1d** достоверно увеличивало латентный период генерализованного судорожного приступа: в дозе 2,5 мг/кг, а соединение **1ж** — в дозе 5 мг/кг. Соединения **1в** в дозах 2,5, 5 и 10 мг/кг и **1б** в дозе 5 мг/кг не обладали противосудорожным действием в тесте антагонизма с коразолом.

Леветирацетам в дозе 2,5 мг/кг не оказывал противосудорожного эффекта в тесте антагонизма с коразолом, а в дозе 600 мг/кг статистически достоверно увеличивал латентный период генерализованных судорог, но не оказывал существенного влияния на выживаемость животных (табл. 1).

Таким образом, противосудорожным эффектом в тесте антагонизма с коразолом обладают соединения **1a**, **1g**, **1d** и **1ж**, среди них наиболее эффективно соединение **1a**, которое увеличивает латентный период генерализованного судорожного приступа и процент выживших после приступа животных до 80 %. Соединения **1б** и **1в** не проявляют противосудорожный эффект в тесте с коразолом.

Установлено, что проведение МЭШ вызывало тоническую экстензию у 70 % мышей и гибель 80 % мышей (табл. 2). Соединение **1a** в дозе 2,5 мг/кг и соединение **1б** в дозе 5 мг/кг достоверно увеличивали по сравнению с контролем процент выживших после проведения МЭШ животных. Соединение **1a** в дозах 1 и 5 мг/кг и соединение **1б** в дозах 2,5 и 50 мг/кг уменьшали по сравнению с контролем процент животных с клоническими судорогами и тонической экстензией и увеличивали количество выживших после проведения МЭШ животных, но этот эффект наблюдался только на уровне тенденции. Уменьшение дозы соединения **1a** до 0,5 мг/кг или увеличение дозы до 10 мг/кг приводило к исчезновению противосудорожного действия. Соединения **1в**, **1g**, **1d** и **1ж** в дозах 2,5 и 5 мг/кг не обладали противосудорожным эффектом в тесте антагонизма с МЭШ.

Леветирацетам в разных диапазонах доз (2,5 и 600 мг/кг) не оказывал достоверного противосудорожного эффекта в тесте антагонизма с МЭШ.

Таким образом, производные 4-фенилпирролидона **1a** и **1б** в тесте МЭШ оказывают противосудорожное действие, статистически достоверно увеличивая в дозах 2,5 и 5 мг/кг, соответственно, процент выживших животных. Соединения **1в**, **1g**, **1d** и **1ж** в дозах 2,5 – 10 мг/кг и препарат сравнения леветирацетам в дозах 2,5 и 600 мг/кг не обладают противосудорожным эффектом в тесте антагонизма с МЭШ.

Анализ связи структура — противосудорожная активность позволил сделать следующие выводы. Наиболее активным соединением оказалось соединение **1a**, содержащее при амидном атоме азота 2,6-диметил-

фенильную группу, то есть соединение, которое можно рассматривать как суперпозицию 2 препаратов, использовавшихся при конструировании предложенной группы веществ — фенотропила и нефирацетама. Соединение **1a** продемонстрировало наилучшую активность во всех тестах по изучению противосудорожной активности. Введение дополнительного метильного заместителя к структуре **1a** (соединение **1б**) приводило к исчезновению противосудорожной активности в тесте антагонизма с коразолом и к ее сохранению в тесте МЭШ. Удаление одной метильной группы из фенильного кольца соединения **1a** (соединение **1в**) приводило к полному исчезновению противосудорожного действия в обоих тестах. В случае наличия одной метоксигруппы в *орто*-положении фенильного заместителя (соединение **1г**) или трифторметильной группы в *мета*-положении фенильного заместителя (соединение **1д**), или использование в качестве амидного заместителя бензильной группы (соединение **1ж**) приводило к наличию противосудорожной активности лишь в тесте антагонизма с коразолом.

Для изучения ноотропной активности отобрано соединение **1a**, продемонстрировавшее наилучшие показатели во всех тестах по изучению противосудорожной активности. Установлено, что у контрольных животных среднее время нахождения скрытой платформы в бассейне в первый день обучения составило 35,2 с (табл. 3). Соединение **1a** в дозе 2,5 мг/кг достоверно уменьшало среднее время нахождения платформы в 1,8 раз, а в дозе 5 мг/кг — в 2 раза. Известный ноотропный препарат сравнения пирацетам в дозе 400 мг/кг уменьшал среднее время нахождения платформы в 1,6 раз, а леветирацетам в дозе 600 мг/кг не оказывал позитивного влияния на обучение животных пространственному навыку.

При воспроизведении обученного пространственного навыка через 48 ч после сеанса обучения у контрольных животных среднее время нахождения в секторе, где ранее (при обучении) находилась платформа, составило 9,71 с. Под влиянием соединения **1a** в дозе 2,5 мг/кг среднее время нахождения в секторе, где ранее (при обучении) находилась платформа, достоверно увеличилось по сравнению с контролем в 1,6 раза, а при использовании соединения **1a** в дозе 5 мг/кг — в 1,8 раза. Пирацетам в дозе 400 мг/кг достоверно увеличивал среднее время нахождения в секторе, где ранее (при обучении) находилась платформа, — в 1,8 раз, а леветирацетам в дозе 600 мг/кг — в 1,4 раза (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют о том, что соединение **1a** в дозах 2,5 и 5 мг/кг обладает способностью улучшать обучение пространственному навыку и его воспроизведение в водном лабиринте Морриса. По влиянию на процессы обучения и воспроизведения соединения **1a** в дозах 2,5 и 5 мг/кг не уступает ноотропному препарату пирацетаму в дозе 400 мг/кг и, таким образом, превосходит его по активности в 160 раз. Структурный аналог соединения **1a** — леветирацетам — в дозе 600 мг/кг не оказывает влияния на обучение и

уступает соединению **1a** по влиянию на процесс воспроизведения.

Таким образом, соединение **1a** обладает отчетливой ноотропной активностью, что выражается в способности соединения улучшать как процесс обучения, так и процесс воспроизведения пространственного навыка в водном лабиринте Морриса. По ноотропной активности соединения **1a** не уступает эталонному ноотропному препарату пирацетаму.

При исследовании острой токсичности соединения **1a** было установлено, что через 1, 24, 48 ч и 5 сут после однократного введения соединения в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг гибели животных не наблюдалось. Эти данные свидетельствуют о том, что доза летальности соединения **1a** выше 200 мг/кг, а терапевтический индекс, вычисляемый по соотношению эффективной и летальной доз (200 мг/кг/5 мг/кг) составляет величину более 40. Из этого следует, что соединение **1a** относится к классу нетоксичных веществ и имеет большую терапевтическую широту.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization, *Atlas: Epilepsy Care in the World*, Geneva, Switzerland (2005); https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43298/9241563036_eng.pdf;jsessionid=5AD9819BFF62468F7DC622552C567CA0?sequence=1
2. L. Forsgren, E. Beghi, A. Oun, M. Sillanpa, *Eur. J. Neurol.*, **12**, 245 – 253 (2005).
3. W. A. Hauser, *Тез. докл. X Всероссийск. съезда неврологов с международным участием*, Нижний Новгород (2012), сс. 313 – 314.
4. А. Б. Гехт, В. А. Хаузер, Л. Е. Мильчакова и др., *Тез. докл. X Всероссийск. съезда неврологов с международным участием*, Нижний Новгород (2012), с. 277.
5. В. А. Карлов, *Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин: руководство для врачей*, Медицина, Москва (2010).
6. Л. А. Жмуренко, Т. А. Воронина, С. А. Литвинова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(1), 19 – 28 (2018); *Pharm. Chem. J.*, **52**(1), (2018).
7. Г. В. Мокров, В. Л. Савельев, Т. А. Воронина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **53**(2), 25 – 31 (2019).
8. Г. В. Мокров, Т. А. Воронина, С. А. Литвинова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **53**(3), 3 – 9 (2019).
9. I. K. Celikyurt, G. Ulak, O. Mutlu, et al., *Life Sci.*, **90**, 185 – 189 (2012).
10. P. Rolan, M. L. Sargentini-Maier, E. Pigeolet, A. Stockis, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **66**(1), 71 – 75 (2008).
11. J. R. Pollard, K. Kulig, *Cur. Opin. Investig. Drugs*, **9**(1), 101 – 107 (2008).
12. Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **70**(4), 44 – 58 (2007).
13. Y. Kitano, C. Komiyama, M. Makino, et al., *Brain Res.*, **1057**(1 – 2), 168 – 176 (2005).
14. О. М. Глозман, И. С. Морозов, Л. А. Жмуренко, В. А. Загоревский, *Хим.-фарм. журн.*, **14**(11), 43 – 48 (1980).
15. Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ. "Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств"*, Часть. 1, ФГБУ "НЦЭМСП", Гриф и К, Москва (2012), сс. 235 – 250.
16. Т. А. Воронина, Р. У. Островская, Т. Л. Гарибова, *Методические указания по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия. "Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных"*

- средств”, Часть. 1, ФГБУ “НЦЭСМП”, Гриф и К, Москва (2012), сс. 276 – 296.
17. W. Löscher, D. Hönack, C. P. Fassbender, B. Nolting, *Epilepsy Res.*, **8**, 171 – 189 (1991).
18. W. Löscher, C. P. Fassbender, B. Nolting, *Epilepsy Res.*, **8**(2), 79 – 94 (1991).
19. E. A. Swinyard, *Epilepsia*, **10**, 107 – 119 (1969).
20. R. G. M. Morris, *J. Neurosci. Methods*, **11**, 47 – 60 (1984).
21. K. M. Frick, S. M. Fernandez, and S. C. Bulinski, *Neurosci.*, **115**(2), 547 – 548 (2002).

Поступила 25.10.18

SYNTHESIS OF 4-PHENYLPYRROLIDONE DERIVATIVES WITH ANTICONVULSANT AND NOOTROPIC ACTIVITY

L. A. Zhmurenko, S. A. Litvinova, G. V. Mokrov*, I. G. Kovalev, T. A. Voronina, L. N. Nerobkova, and T. A. Gudasheva

V. V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, Moscow, 125315 Russia

* e-mail: g.mokrov@gmail.com

We present the design of new derivatives of 4-phenylpyrrolidone based on the structures of racetams, combining nootropic and anticonvulsant action. The designed compounds were synthesized using 4-phenylpyrrolidone and aromatic amines. The anticonvulsant activity of new substances was studied and the structure – activity relationship was analyzed. Compound 1a (2,6-dimethylanilide(2-oxo-4-phenylpyrrolidin-1-yl)acetic acid) was most active (in doses of 2.5 – 5.0 mg/kg) and in all tests exceeded the reference drug levetiracetam (in doses 2.5 – 600 mg/kg). Compound 1a in doses of 2.5 – 5 mg/kg exhibited a clearly pronounced nootropic activity comparable to that of the reference nootropic drug piracetam (at a dose of 400 mg/kg).

Keywords: 4-phenylpyrrolidones; anticonvulsant activity; nootropic activity; maximal electroshock test; corazol antagonism test.