

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

СИНТЕЗ И ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ОКСИМОВ 3- И 4-БЕНЗОИЛПИРИДИНОВ

ФГБНУ "НИИ фармакологии им. В. В. Закусова", Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8;
e-mail: g.mokrov@gmail.com

Представлен синтез производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов с потенциальным противосудорожным действием. Наиболее активным соединением в тесте максимального электрошока оказался оксалат О-2-морфолиноэтилоксим 4-бензоилпиридина (1а), который в дозах от 60 до 150 мг/кг (внутрибрюшинно) увеличивал выживаемость мышей до 100 %. В тесте антагонизма с коразолом лучший эффект продемонстрировал О-(изоникотиноил)оксим 4-бензоилпиридина (2в), который в дозе 12,5 мг/кг (внутрибрюшинно) увеличивал выживаемость мышей до 67 % и латентное время наступления генерализованных тонико-клонических судорог на 52 с. Соединение 1а обладает низкой токсичностью (ЛД₅₀ 316 мг/кг, мыши, внутрибрюшинно) и терапевтическим индексом 21.

Ключевые слова: оксимы 3- и 4-бензоилпиридинов; противосудорожная активность; тест максимального электрошока; тест антагонизма с коразолом.

По приблизительным оценкам каждый год во всем мире у 2,4 млн человек диагностируется эпилепсия. В настоящее время поиски новых противосудорожных средств для профилактики и лечения эпилепсии являются актуальной задачей, так как современные противоэпилептические средства не удовлетворяют в полной мере требованиям клиники и имеют множество побочных эффектов [1, 2].

В ФГБНУ "НИИ фармакологии им. В. В. Закусова" ведутся работы по поиску новых средств для лечения эпилепсии. В настоящей работе представлены результаты исследования по синтезу и изучению соединений с потенциальной противосудорожной активностью в ряду оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов.

Конструирование целевых соединений осуществлялось при помощи фармакофорного подхода. При этом были использованы структуры известных препаратов, относящихся к классу селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС). Известно, что основным эффектом препаратов группы СИОЗС является антидепрессивное действие, однако у некоторых представителей этого класса, например, зимелидина [3] и флуоксетина (рис. 1) [4], наблюдается выраженная противоэпилептическая активность.

Анализ структур зимелидина и флуоксетина позволил сделать предположение о фармакофорных элементах, необходимых для наличия противосудорожной активности (рис. 2, а). В молекуле должны быть 1 аминоксодержащий и 2 ароматических фармакофора. Указанные группы должны соединяться при помощи линкера с длиной не менее 3 σ-связей. На основании предложенной фармакофорной модели сконструирована группа аминоксодержащих производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридина (рис. 2, б). В качестве ароматических фармакофоров эти соединения содержат фенильный и пиридиновый циклы, в качестве аминоксодержащей компоненты — дизамещенный амин, а в качестве линкера — алкилоксимовый фрагмент.

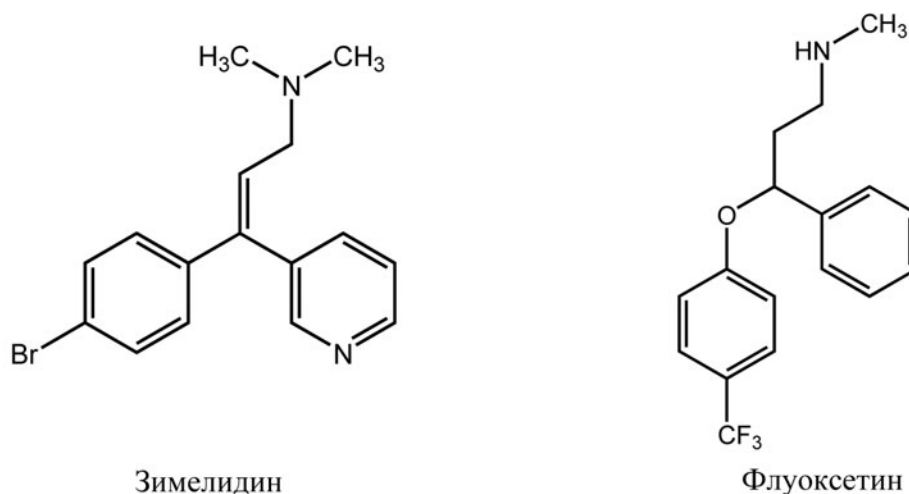


Рис. 1. Соединения, обладающие противосудорожной активностью, использовавшиеся для дизайна новых структур.

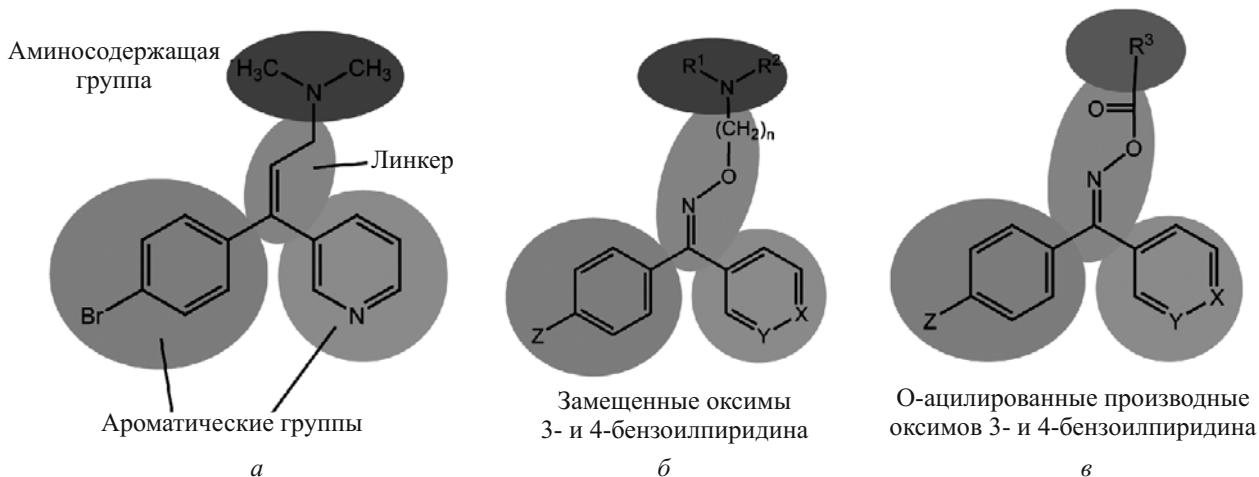
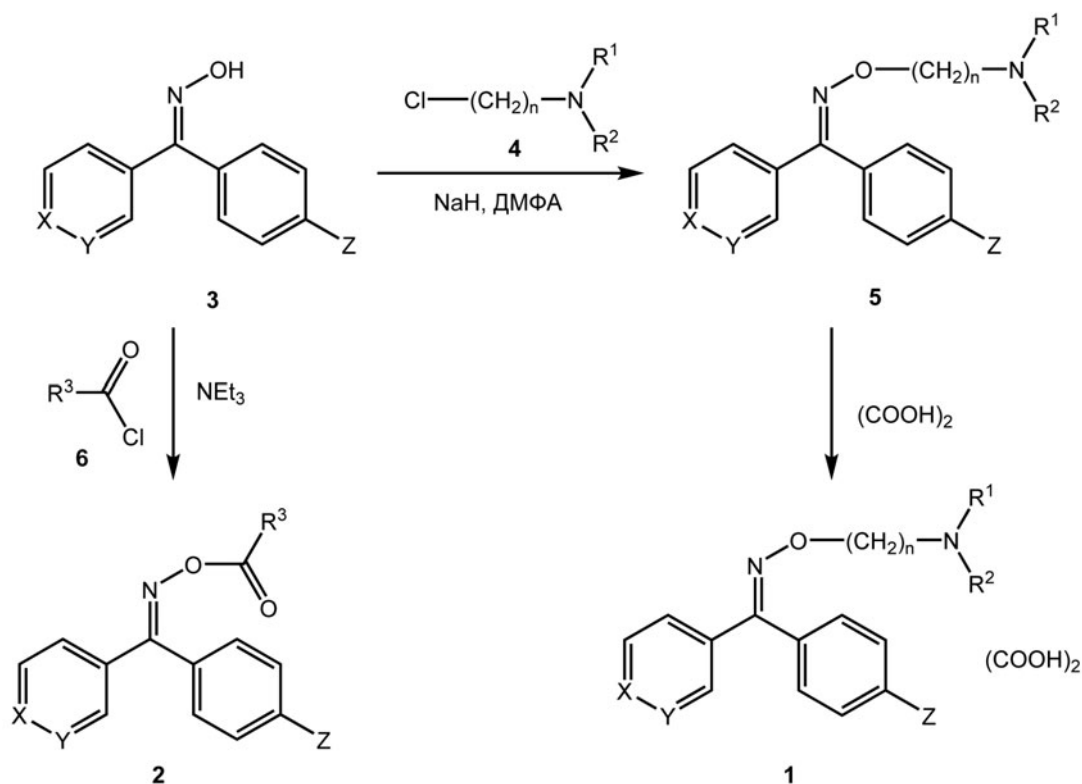


Рис. 2. Фармакофорная модель строения бис-арильных соединений, обладающих противосудорожной активностью (на примере зимелидина) (*a*). Аминосодержащие производные оксиминов 3- и 4-бензоилпиридина, соответствующие этой фармакофорной модели (*б*). О-ацилированные производные оксиминов 3- и 4-бензоилпиридина (*в*).

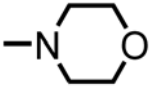
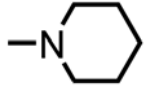
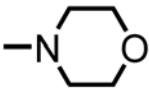
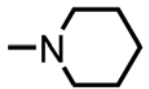
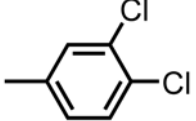
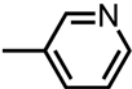
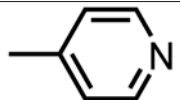
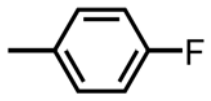
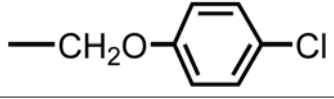
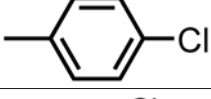
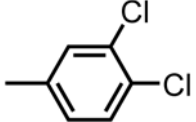
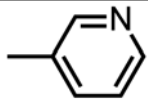
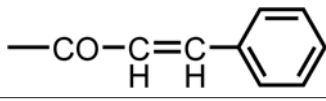
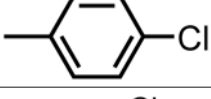
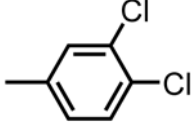
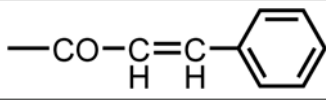
Для расширения представлений о структурных требованиях к соединениям, обладающим противосудорожными свойствами, нами также предложено исследовать О-ацилированные производные оксиминов 3- и 4-бензоилпиридина, содержащие вместо аминосодержащего фармакофора ароматический ацильный фрагмент (рис. 2, *в*).

Экспериментальная химическая часть

Синтез целевых соединений осуществляли по следующей общей схеме.



Соединение	X	Y	Z	n	NR ¹ R ²	R ³
1a	N	H	H	2		
1б	N	H	H	2	N(CH ₃) ₂	
1в	N	H	H	3	N(CH ₃) ₂	

Соединение	X	Y	Z	n	NR ¹ R ²	R ³
1г	H	N	Cl	2		
1д	H	N	Cl	2		
1е	H	N	Cl	2	N(CH ₃) ₂	
1ж	H	N	F	2		
1з	H	N	F	2		
1и	H	N	F	2	N(CH ₃) ₂	
2а	N	H	H			
2б	N	H	H			
2в	N	H	H			
2г	N	H	H			
2д	N	H	H			
2е	H	N	Cl			
2ж	H	N	Cl			
2з	H	N	Cl			
2и	H	N	Cl			
2к	H	N	F			
2л	H	N	F			
2м	H	N	F			

При реакции оксимов бензоилпиридинов (**3a – в**) [5, 6] с аминоклхлоридами (**4**) в присутствии гидрида натрия в ДМФА получают основания (**5a – и**). Взаимодействием последних с щавелевой кислотой в этаноле получают соответствующие оксалаты O-(аминоклхлоримов) 3- и 4-бензоилпиридинов (**1a – и**).

При кипячении оксимов **3a – в** с хлорангидридами кислот **б** в присутствии триэтиламина в бензоле были получены O-(ацилхлоримы) 3- и 4-бензоилпиридинов (**2a – м**).

Строение целевых соединений **1a – и** и **2a – м** подтверждено данными ПМР-спектроскопии, а их чистота — данными элементного анализа.

Все полученные соединения могут существовать в виде *син-анти*-изомеров так же, как и исходные оксимы [6, 7]. При помощи ЯМР ¹H спектроскопии определены соотношения *син-анти*-изомеров синтезированных веществ. При этом установлено, что некоторые соединения содержат оба изомера: **1б** (85:15), **1е** (70:30), **1з** (35:65), **1и** (70:30), **2a** (95:5), **2е** (40:60), **2ж** (40:60), **2и** (30:70), **2к** (40:60), **2л** (50:50), **2м** (30:70), а некоторые соединения представляют собой только 1 изомер: **1a**, **в**, **г**, **ж**, **2б – д**, **2з**. На основании литературных данных можно предположить, что основным изомером является Z-изомер, так как близкие по структуре оксимы являются Z-изомерами [7].

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. Данные элементных анализов производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридина (**1a – и** и **2a – м**) соответствуют брутто-формулам. Физико-химические свойства представлены в табл. 1.

O-2-Морфолиноэтилоксим 4-бензоилпиридина, оксалат (1a). К 0,90 г (0,022 моль) NaN в 7 мл сухого ДМФА прикапывают раствор 2,24 г (0,011 моль) оксима 4-бензоилпиридина (**3a**) [5] в 20 мл ДМФА при охлаждении водой (10 – 15 °С), перемешивают 1 ч, прибавляют 2,56 г (0,017 моль) хлорэтилморфолина (основания, полученного из 3,5 г хлоргидрата амина), перемешивают 2 ч при комнатной температуре, прибавляют 220 мл воды, экстрагируют 3 раза этилацетатом (по 40 мл), сушат над MgSO₄, упаривают, остаток (количественный выход, в виде масла) растворяют в 5 мл спирта, прибавляют 0,9 г щавелевой кислоты в 2 мл спирта, полученный осадок отфильтровывают, получают 3 г соединения **1a**.

Соединения **1б – и** получены аналогично. Данные о соединениях **1a – и** приведены в табл. 1. Синтез **1б** и **1в** описан в патенте [8], а соединения **1в** и **1е** [6].

O-(3,4-Дихлорбензоил)оксим 4-бензоилпиридина (2a). Смесь 0,99 г (0,005 моль) оксима 4-бензоилпиридина (**3a**), 1,26 г (0,006 моль) хлорангидрида 3,4-дихлорбензойной кислоты и 0,60 г (0,006 моль) сухого триэтиламина в 10 мл сухого бензола кипятят 2 ч, оставляют на 1 сут, обрабатывают водой (осадок растворяется), бензольный раствор промывают насыщенным раствором NaHCO₃, затем водой, сушат над MgSO₄, упаривают, масло затирают под петролейным эфиром, кристаллизуют из спирта. Выход 1,30 г.

Соединения **2б – м** получены аналогично. Данные о соединениях **2a – м** приведены в табл. 1.

Экспериментальная биологическая часть

Эксперименты проводили на белых беспородных мышах-самцах массой 20 – 26 г. Экспериментальных животных получали из питомника “Столбовая” ГУ НЦБМТ (Московская область). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и нормативным документам “Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев”, утвержденным Главным Государственным санитарным врачом 06.04.1973 г. № 1045 – 73 и Приказом МЗ и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н “Об утверждении Правил лабораторной практики”.

Противосудорожное действие производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов на модели первично-генерализованных судорог, вызванных максимальным электрошоком. Каждую дозу соединения исследовали на 8 – 10 животных. МЭШ создавали с использованием сертифицированной установки “RodentShockerRS”, type 221 (HarvardApparatus, GmbH, Германия). Животные через специальные корнеальные электроды получали электрические стимулы (режим 500/300 V/mA: 144 mA, длительностью 0,3 с). Регистрировали тоническую экстензию задних и передних конечностей и гибель животных. Противосудорожный эффект заявляемых соединений оценивали по способности предупреждать развитие тонической экстензии и гибель животных. Соединения вводили внутривентриально за 40 минут до проведения МЭШ [9 – 11].

Противосудорожное действие производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов на модели первично-генерализованных судорог, вызванных коразолом. Каждую дозу соединения исследовали на 8 – 10 животных. Опытным группам внутривентриально вводили исследуемые соединения, растворенные в физиологическом растворе в дозах 1 и 50 мг/кг за 40 мин до коразола. Контрольным животным внутривентриально вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Для получения судорожного припадка животным подкожно в область шейного отдела спины вводили коразол в дозе 100 мг/кг, вызывающей судороги у 100 % мышей. Наблюдение за

Физико-химические характеристики производных O-R-оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов (1а – и 2а – м)

Соединение	Z	R	Выход, %	T _{пл} , °С, растворитель	Брутто-формула*	ПМР-спектр, ДМСО-d ₆ , δ, J/Гц
1а	H		75,0	154 – 155 (спирт)	C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₂ · H ₂ C ₂ O ₄	2,83 (4H, м, -CH ₂ -N-CH ₂ -); 3,10 (2H, т, CH ₂ N, J = 6,0); 3,67 (4H, м, 4H, м, CH ₂ -O-CH ₂); 4,39 (2H, т, CH ₂ O, J = 6,0); 7,35 (2H, м, 3- и 5-H Py); 7,37 – 7,51 (5H, м, ArH); 8,71 (2H, м, 2- и 6-H Py), 5,10 устр.(HDO и (COOH) ₂)
1б	H		63,7	164 – 165 (спирт)	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O · 1,5H ₂ C ₂ O ₄	2,71 (6H, с, N(CH ₃) ₂), 3,42 (2H, т, CH ₂ N, J = 6,0); 4,48 (2H, п, OCH ₂ , J = 6,0); 7,37 и 7,45; 8,61 и 8,71 (4H, м, PyH), 7,39 – 7,52 (5H, м, ArH)
1в	H		76,3	152 – 153 (спирт)	C ₁₇ H ₂₁ N ₃ O · H ₂ C ₂ O ₄	2,73 (6H, с, N(CH ₃) ₂); 2,08 (2H, м, CH ₂ ^б); 3,04 (2H, т, CH ₂ ^с , J = 6,0); 4,18 (2H, т, CH ₂ ^а , J = 6,0); 7,35 и 8,72 (4H, м, PyH), 7,42 (5H, м, ArH), 6,92 устр. (HDO и (COOH) ₂)
1г	Cl		46,6	177 – 178 (спирт)	C ₂₀ H ₂₂ ClN ₃ O ₆	2,92 (4H, м, CH ₂ -N-CH ₂), 3,21 (2H, м, CH ₂), 3,70 (4H, м, CH ₂ -O-CH ₂), 4,44 (2H, м, CH ₂ , под HDO), 7,40 – 7,79 (4H, м, ArH), 8,56 – 8,66 (4H, м, 2-H, 4-H, 5-H, 6-H (Py))
1д	Cl		88,6	125 – 127 (спирт)	C ₂₁ H ₂₄ ClN ₃ O ₅	1,45 (6H, м, (CH ₂) ₃ цикла), 3,05 (4H, м, CH ₂ -N-CH ₂ -цикла), 3,36 (2H, т, NCH ₂ , J = 6,0), 4,49 (2H, м, CH ₂), 7,40 – 7,90 (7H, м, PyH, ArH), 8,50 – 8,70 (2H, м, 2-H, 6-H)
1е	Cl		78,0	154 – 155 (спирт)	C ₁₈ H ₂₀ ClN ₃ O ₅	2,71 и 2,73 (3H, с, N(CH ₃) ₂), 3,43 (2H, м, CH ₂), 4,49 (2H, м, CH ₂), 4,70 (устр. HDO и COOH), 7,40 – 7,60 (5H, м, 5-H (Py), ArH), 7,76 – 7,82 (1H, м, 4-H (Py)), 8,52 – 8,70 (2H, м, 2-H, 6-H (Py))
1ж	F		32,0	145 – 146 (спирт)	C ₂₀ H ₂₂ FN ₃ O ₆	3,18 (4H, м, CH ₂ -N-CH ₂), 3,48 (2H, м, CH ₂), 3,77 и 4,00 (4H, м, CH ₂ -O-CH ₂), 4,49 (2H, м, CH ₂), 7,25 – 7,65 (6H, м, ArH, PyH), 8,50 – 8,70 (2H, м, 2-H, 6-H)
1з	F		70,7	152 – 153 (спирт)	C ₂₁ H ₂₄ FN ₃ O ₅	1,47 (2H, м, CH ₂), 1,65 (4H, м, CH ₂ -CH ₂), 3,02 (4H, м, CH ₂ -N-CH ₂), 3,32 (2H, м, CH ₂ N), 4,46 (2H, м, CH ₂ O), 7,20 – 7,85 (6H, м, 4-H, 5-H (Py), ArH), 8,55 – 8,66 (2H, м, 2-H, 6-H(Py)).
1и	F		48,0	136 – 137 (спирт)	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₅	2,73 и 2,75 (6H, с, N(CH ₃) ₂), 3,45 и 4,48 (4H, 2 м, CH ₂ -CH ₂), 7,00 – 7,50 (5H, м, ArH, 5-H(Py)), 7,51 – 8,80 (3H, м, 2-H, 4-H, 6-H (Py))
2а	H		70,3	100 – 101 (спирт)	C ₁₉ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₂	7,45 – 7,60 и 7,62 – 7,85 (10H, м, 5-H ArH, Ar(Cl) и 3-H Py); 8,60 – 8,80 (2H, м, 2-H и 6-H (Py))
2б	H		55,5	142 – 144 (этилацетат)	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₂	7,30 – 7,60 и 7,75 (9H, два м, ArH, 5-H и Py); 8,67 и 8,72 (2H, два м, 6-H от двух Py); 8,72 – 8,84 (2H, м, 2-H от двух Py)
2в	H		65,5	150 – 151 (этилацетат)	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₂	7,20 – 7,45 и 7,45 – 7,80 (9H, два м, ArH, 5-H и Py); 8,60 – 8,85 (4H, два м, 2-H и 6-H)
2г	H		55,7	125 – 126 (спирт)	C ₁₈ H ₁₃ FN ₂ O ₂	7,3 – 7,8 (10H, м, ArH, PyH), 8,7 – 8,8 (3H, м, 2-H, 4-H, 6-H (Py))
2д	H		70,2	99 – 100 (спирт)	C ₁₉ H ₁₅ ClN ₂ O ₃	5,00 (2H, с, CH ₂), 6,94 и 7,31 (4H, м, O-C ₆ H ₄ -Cl), 7,51 (5H, м, ArH), 7,39 и 8,74 (4H, два м, PyH)

Соединение	Z	R	Выход, %	T _{пл} , °С, растворитель	Брутто-формула*	ПМР-спектр, ДМСО-d ₆ , δ, J/Гц
2е	Cl		43,0	143 – 145 (этилацетат)	C ₁₉ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₂	7,45 – 7,75 (9H, м, ArH, 5-H (Py)), 8,04 (1H, м, 4-H (Py)), 8,65 – 8,84 (2H, м, 2-H и 6-H (Py))
2ж	Cl		50,5	129 – 130 (спирт)	C ₁₉ H ₁₁ Cl ₃ N ₂ O ₂	7,50 – 7,85 (8H, м, 2 ArH, 5-H (Py)), 7,90 – 8,02 (1H, м, 4-H (Py)), 8,70 – 8,82 (2H, м, 2-H и 6-H (Py))
2з	Cl		34,0	142 – 143 (этилацетат)	C ₁₈ H ₁₂ ClN ₃ O ₂	7,25 – 7,60 и 7,75 (8H, два м, ArH, 4-H и 5-H от двух Py), 8,60 – 8,80 (3H, м, 2-H и 6-H от двух Py), 8,80 – 8,90 (1H, м, 2-H (Py))
2и	Cl		52,5	141 – 142 (этилацетат)	C ₂₁ H ₁₅ ClN ₂ O ₂	6,60 – 6,64 (1H, м, CH=), 7,36 – 7,77 (11H, м и 2 с, 2 ArH, CH=, 5-H (Py)), 7,91 (1H, м, 4-H (Py)), 8,62 – 8,76 (2H, м, 2-H и 6-H (Py))
2к	F		34,0	137 – 139 (спирт)	C ₁₉ H ₁₂ FCIN ₂ O ₂	7,30 – 8,01 (10H, м, ArH, 4-H, 5-H (Py)), 8,71 – 8,78 (2H, м, 2-H, 6-H (Py))
2л	F		77,1	125 – 127 (спирт)	C ₁₉ H ₁₁ FCl ₂ N ₂ O ₂	7,37 – 7,82 (8H, м, ArH, 5-H (Py)), 7,90 – 8,02 (1H, м, 4-H (Py)), 8,70 – 8,82 (2H, м, 2-H и 6-H (Py))
2м	F		49,7	124 – 126 (спирт)	C ₂₁ H ₁₅ FN ₂ O ₂	6,82 (1H, м, CH=), 7,35 – 8,11 (11H, м и 2 с, ArH и CH=), 7,90 (1H, м, 4-H (Py)), 8,62 – 8,79 (2H, м, 2-H и 6-H (Py))

* Соединения **1а** – **3** получены в виде оксалатов, а **2а** – **м** – в виде оснований.

животными вели в течение 30 – 60 мин после инъекции коразола. Регистрировали латентный период первого генерализованного приступа с потерей рефлекса переворачивания (ЛП) и число погибших животных [9, 12].

Острая токсичность производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов. Оксимы 3- и 4-бензоилпиридинов вводили однократно внутривенно. Регистрацию гибели животных для определения значения ЛД₅₀ проводили через 24 ч и 14 дней после введения. Терапевтический индекс (ТИ) рассчитывали по формуле: ТИ = ЛД₅₀/ЭД₅₀.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и BioStat 2009 (Analyst Soft Inc.). Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро — Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев Крускала — Уолиса и точного критерия Фишера.

ЛД₅₀ рассчитывали методом пробит-анализа (метод Финни) с помощью программного пакета Statplus V5.

Для оценки противосудорожной активности синтезированных соединений использовали 2 модели на мышах: методику максимального электрошока (МЭШ) и тест антагонизма с коразолом. Методика МЭШ моделирует первично-генерализованные судороги, так называемые “большие” (Grant mal) судорожные припадки [9 – 11].

В тесте антагонизма с коразолом судороги вызывают химическим воздействием антагонистом ГАМКА-рецепторов коразолом, и они моделируют первично-генерализованные судороги при так называемых “малых” (Petit mal) судорожных припадках [9, 12].

Обе модели являются базисными тестами при оценке действия веществ с противосудорожной активностью.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что воздействие МЭШ вызывало тоническую экстензию и гибель 90 % мышей. Соединения **1а**, **1в**, **1г**, **1е**, **1ж**, **2а**, **2б**, **2ж**, **2л** и **2м** в диапазоне от 0,25 до 150 мг/кг при однократном внутривенном введении уменьшали число животных с тонической экстензией и увеличивали количество выживших животных по сравнению с контролем. Так, у мышей, получавших соединение **1а** в дозах 20 и 40 мг/кг, наблюдалось исчезновение тонических судорог и увеличение выживаемости до 67 %, а в дозах от 60 до 150 мг/кг — до 100 % (табл. 2). Соединение **1в** в дозе 5 мг/кг достоверно увеличивало показатель выживаемости до 63 % по отношению к контрольному значению (в контроле 10 %). При увеличении дозы соединения **1в** от 20 до 40 мг/кг наблюдалось увеличение количества животных без тонической экстензии, что приводило к повышению показателя выживаемости животных до 88 %. Соединение **1г** в дозе 100 мг/кг предупреждало развитие тонических судорог в 75 %

Противосудорожная активность производных оксимов 4- и 3-бензоилпиридинов в тесте МЭШ и на модели первично генерализованных судорог, вызванных коразолом

Соединение	МЭШ		Коразол		
	доза, мг/кг	% выживших	доза, мг/кг	ЛП 1-го приступа	% выживших
Контроль	—	10	—	32,8 ± 7,2	0
1а	0,5; 1,5	25	20	180,3 ± 37,4*	13
	10	50	60	91,4 ± 10,1*	20
	20; 40	67 [#]	100		20
	60, 80, 100, 150	100 [#]			
1б	25	0	13	21,3 ± 11,2	17
	50	33	5		0
	100	11	25	28,8 ± 10,6	0
			50	17,5 ± 8,7	0
1в	1	13	13		0
	3	38	25	40,5 ± 10,2	0
	5	63 [#]	50	89,1 ± 7,8*	17
	20	75 [#]			
	40	88 [#]			
1г	2,5; 5	17	5	65 ± 29	0
	10	33	100	96 ± 18*	0
	100	75 [#]			
	150	100 [#]			
1д	12,5	0	12,5, 25, 50		0
	25, 50	33			
1е	1,5; 3	67 [#]	6	49,0 ± 11,3*	40
	6,25	50	12,5	71,7 ± 16,5*	50 [#]
	12,5	43	20	53,9 ± 17,1	10
1ж	5	0	12,5		0
	10	17	20		17
	20, 40	67 [#]			
1и			10, 20		33
2а	5	25	5	28,5 ± 11,5	0
	10	38	20	44,5 ± 14,3	33
	20	63 [#]			
	40	50			
2б	5	33	5		0
	20	33	20		33
	40	0			
	60	67 [#]			
2в	5	0	12,5	85,3 ± 28,3*	67 [#]
	20	13	20	48,6 ± 15,3	33
	50	0	50	67,8 ± 17,6*	56 [#]
2е	12,5	17	10		0
	25	33	25		17
	50	17	50		0
2ж	0,5	37	12,5		0
	1,25; 2,5	50	25, 50		17
	5	38			
	10	25			
	50	25			
2л	0,12	33	0,12 – 5		0
	0,25	50		25	17
	0,5, 5	17		50	0
	10, 30	13		100	17
2м	5	38	5		0
	10	50			
	20	25			
Вальпроевая кислота (конвульсофин)	100	89 [#]	100	64,6 ± 14,7*	78 [#]

Примечание: режим 500/300 V/mA: 144 mA, t = 0,3 с.

* Значимость отличий от контрольной группы при p ≤ 0,05 (критерий Манна — Уитни); [#] значимость отличий от контрольной группы при p ≤ 0,05 (точный критерий Фишера).

Острая токсичность производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов у мышей (внутрибрюшинно)

Соединение	Доза, мг/кг	Выживших			
		через 24 ч, а. е.	через 24 ч, %	через 14 дней, а. е.	через 14 дней, %
1а	220	9/10	90	9/10	90
	300	6/10	60	6/10	60
	350	5/10	50	5/10	50
	420	0/10	0	0/10	0
1в	100	9/10	90	6/10	60
	150	7/10	70	2/10	20
	200	2/10	20	1/10	10
	400	1/10	10	0/10	0
1г	150	6/6	100	6/6	100
	200	6/6	100	4/6	67
	300	5/6	83	1/6	17
1е	50	6/6	100	6/6	100
	100	9/10	90	9/10	90
	200	4/6	67	4/6	67
	400	3/6	50	3/6	50

случаев, а при введении дозы 150 мг/кг — в 100 %. Соединение **1е** в дозах 1,5 и 3 мг/кг и соединение **1ж** в дозах 20 и 40 мг/кг увеличивали выживаемость мышей в тесте антагонизма с МЭШ до 67 %. При увеличении дозы соединения **1е** до 12,5 мг/кг эффективность по показателю выживаемости снижалась. Для соединения **2а** показано, что кривая зависимости выживаемости от дозы носила куполообразный характер. Так в дозе 5 мг/кг соединение **2а** способствовало устранению тонической экстензии и выживаемости 25 % мышей, а в дозе 20 мг/кг — 63 %, тогда как с повышением дозы до 40 мг/кг эффективность соединения **2а** снижалась до 50 % по показателю выживаемости (табл. 2). Соединение **2б** в дозе 60 мг/кг уменьшало число животных с тонической экстензией и увеличивало количество выживших животных по сравнению с контролем до 67 %, тогда как при снижении дозы (40, 20 и 5 мг/кг) такой эффект не наблюдался. Соединения **2ж**, **2л** и **2м** в дозах от 0,25 до 10 мг/кг показали увеличение показателя выживаемости животных до 50 % ($p < 0,12$). Препарат сравнения конвульсофин (100 мг/кг) в тесте антагонизма с МЭШ вызывал устранение тонической экстензии конечностей и гибель у 89 % животных (табл. 2).

Таким образом, соединения **1а**, **1в**, **1г**, **1ж** статистически достоверно защищали животных от развития тонической экстензии и гибели, вызванной МЭШ, с линейной зависимостью доза — эффект в интервале доз от 0,5 до 150 мг/кг. Эффективность соединения **1е** наблюдалась только в диапазоне низких доз (1,5 – 3 мг/кг). Для соединения **2а** наблюдалась куполообразная зависимость доза — эффект с максимумом эффективности в дозе 20 мг/кг. Активность соединений **1а**, **1в** и **1г** по показателю выживаемости в тесте антагонизма с МЭШ была сопоставима с действием противосудорожного препарата конвульсофина, который использовали в качестве препарата сравнения.

При подкожном введении коразола в дозе 100 мг/кг развитие первого судорожного генерализованного приступа (латентный период) наблюдалось через 32,8 с, при этом погибло 100 % мышей. В тесте антагонизма с коразолом установлено, что соединение **1а** в дозах 20 и 60 мг/кг статистически достоверно увеличивало латентный период первого генерализованного приступа (ЛП) на 148 и 59 с, соответственно, а соединения **1в** (в дозе 50 мг/кг) и **1г** (в дозе 100 мг/кг) на 56 и 64 с, соответственно, по сравнению с контрольной группой, но не предотвращали развитие вызванных коразолом судорог и гибели животных (табл. 2). Соединение **1е** в дозах 6 и 12,5 мг/кг, а также соединение **2в** в дозах 12,5 и 50 мг/кг статистически достоверно увеличивали латентный период возникновения первого судорожного приступа и защищали от гибели от 50 до 66,7 % животных (табл. 2). Соединения **1д**, **2б**, **2е**, **2ж**, **2л** и **2м** не влияли на развитие судорог и гибель животных при введении в дозе от 0,5 до 60 мг/кг

Рассчитанные показатели ЛД₅₀ и ЭД₅₀ производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов

Соединение	ЛД ₅₀ , мг/кг	ЭД ₅₀ , мг/кг	ТИ
1а	316	17	21
1в	115	7	16
1е	385	11	34
1г	242	59	4

(табл. 2). Препарат сравнения конвульсофин при введении в дозе 100 мг/кг увеличивал время наступления первого судорожного приступа и защищал от гибели 78 % животных (табл. 2).

Таким образом, в тесте антагонизма с коразолом эффект по показателю выживаемости регистрировали только у соединений **1е** и **2в**. У соединений **1а**, **1в**, **1г** и **1е** регистрировали умеренный противосудорожный эффект по показателю увеличения латентного времени наступления судорожного припадка (ЛП), вызванного коразолом.

Для оценки острой токсичности (на мышах, внутрибрюшинно) были выбраны наиболее активные соединения, сопоставимые по эффективности с конвульсофином в тесте антагонизма с МЭШ, а именно — **1а**, **1в**, **1г** и соединение **1е**, эффективность которого наблюдалась как в тесте антагонизма с МЭШ, так и в тесте с коразолом.

ЭД₅₀ и ЛД₅₀ определяли методом пробит-анализа (метод Финни). ТИ рассчитывали по формуле: $ТИ = ЛД_{50} / ЭД_{50}$.

Исследование острой токсичности соединений, содержащих морфолиноэтильную группировку (**1а**, **1г**), показало, что через 24 ч после введения соединения **1а** в дозе 220 мг/кг наблюдалась гибель 10 % животных (1 из 10), изменения показателя выживаемости через последующие 2 недели не наблюдалось. При увеличении дозы до 420 мг/кг отмечалась 100 % гибель животных уже через 24 ч. При введении соединения **1г** в дозе 150 мг/кг не наблюдалось гибели животных на протяжении всего времени наблюдения, тогда как в дозе 300 мг/кг наблюдалась гибель 10 % животных через 24 ч, а к 14 сут показатель гибели увеличился до 83 %. Соединение **1в**, содержащее диметиламинопропильную группировку, через 24 ч после однократного введения в дозе 100 мг/кг вызывало гибель 10 % животных, вместе с тем через 14 дней показатель гибели увеличивался до 40 %. При увеличении дозы до 200 мг/кг через 24 ч погибло 80 % животных и 90 % — через 14 дней, а в дозе 400 мг/кг соединение **1г** вызывало 90 % гибель животных через 24 ч и 100 % — к концу эксперимента. При введении соединения **1е** в дозе 100 мг/кг регистрировали гибель 10 % животных через 24 ч, которая не увеличивалась через 2 недели наблюдения. При введении соединения **1е** в дозе 400 мг/кг наблюдалась гибель 50 % мышей через 24 ч, этот показатель также не увеличивался в последующие 2 недели (табл. 3).

Расчет летальных доз (ЛД) методом пробит-анализа (метод Финни) показал, что доза соединения **1а**, при введении которой погибает 50 % мышей (ЛД₅₀), составляла 316 мг/кг, для соединения **1в** этот показатель составлял 115 мг/кг, для соединений **1г** и **1е** — 242 и 385 мг/кг соответственно (табл. 4).

Таким образом, исследованные производные оксимов 3- и 4-бензоилпиридина — соединения **1а**, **1в**, и **1е** — относятся к классу умеренно токсичных веществ, а их терапевтические индексы составляют величину более 10.

Анализ взаимосвязи структура — действие в ряду полученных соединений свидетельствует о том, что активность веществ существенно зависит от их строения. Наиболее активными оказались соединения, имеющие морфолиноэтильную (**1а**, **1г**, **1ж**), диметиламиноэтильную (**1е**), диметиламинопропильную (**1в**), а также 3,4-дихлорбензоильную (**2а**) группировки, представляющие собой 1 пространственный изомер. В то же время четкой корреляции между положением атома азота в пиридиновом гетероцикле, а также наличием или отсутствием галогена в бензольном кольце и активностью соединений не выявлено. Соединения **2м**, **2ж**, **2е**, обладающие низкой противосудорожной активностью, имели бензольные радикалы с 2 или 1 хлоргалогеном, а замена галогена Cl на F в пиридиновом гетероцикле не вызывала усиления эффективности. Противосудорожная активность в тесте антагонизма с МЭШ соединений с морфолиноэтильным радикалом отмечалась в диапазоне средних и высоких доз (от 20 до 150 мг/кг) и воспроизводилась в независимости от замены в Z-положении пиридинового гетероцикла Cl, F или H. Противосудорожная активность соединений с алифатическим радикалом — **1в**, **1е** — регистрировалась в низком диапазоне доз (от 1 до 5 мг/кг).

Таким образом, представлен синтез производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов с потенциальным противосудорожным действием. Наиболее активным соединением в тесте максимального электрошока оказался оксалат О-2-морфолиноэтилоксим 4-бензоилпиридина (**1а**), который в дозах от 60 до 150 мг/кг (внутрибрюшинно) увеличивал выживаемость мышей до 100 %. В тесте антагонизма с коразолом лучший эффект продемонстрировал О-(изоникотиноил)оксим 4-бензоилпиридина (**2в**), который в дозе 12,5 мг/кг (внутрибрюшинно) увеличивал выживаемость мышей до 67 % и латентное время наступления генерализованных тонико-клонических судорог на 52 с. Соединение **1а** обладает низкой токсичностью (ЛД₅₀ 316 мг/кг, мыши, внутрибрюшинно) и терапевтическим индексом 21.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Карлов, *Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин: руководство для врачей*, Медицина, Москва (2010).
2. Р. Д. Портер, Б. С. Мелдрум, *Противоэпилептические средства*, в кн. Б. Г. Катцунг, *Базисная и клиническая фармакология*, в 2 т., т. 1., пер. с англ., Бином, Москва, “Диалект”, Санкт-Петербург (2007), сс. 464 – 491.
3. D. Perićić, D. Š. Štrac, J. Vlajnić, *J. Neural Transmission*, **113**(12), 1863 – 1871 (2006).
4. E. Favale, V. Rubino, P. Mainardi, et al., *Neurology*, **45**(10), 1926 – 1927 (1995).
5. S. L. Lee, B. V. Williams, M. M. Kochhar, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 393 (1965).
6. О. М. Глозман, Л. А. Жмуренко, Л. М. Мещерякова и др., *Хим-фарм. журнал.*, **21**(9), 1059 – 1063 (1987); *Pharm. Chem. J.*, **21**(9), 624 – 629 (1987).
7. В. П. Лезина, С. Г. Розенберг, О. М. Глозман и др., *Химия гетероцикл. соед.*, **8**, 1073 – 1077 (1990).
8. J. A. van Zorge, Patent US 4297359 (1981).

9. 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.
10. W. Löscher, C. P. Fassbender, B. Nolting, *Epilepsy Res.*, **8**(2), 79 – 94 (1991).
11. E. A. Swinyard, *Epilepsia*, **10**, 107 – 119 (1969).
12. W. Löscher, D. Hönack, C. P. Fassbender, B. Nolting, *Epilepsy Res.*, **8**, 171 – 189 (1991).

Поступила 21.06.17

SYNTHESIS AND ANTICONVULSANT ACTIVITY OF 3- AND 4-BENZOYLPYRIDINE OXIME DERIVATIVES

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

Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125315 Russia

The synthesis of 3- and 4-benzoylpyridines oxime derivatives with potential anticonvulsant activity is described. The most active compound in maximal electroshock test was found to be 4-morfolinoethyloxime of 4-benzoylpyridine (1a) which increased the survival rate of mice to 100% upon intraperitoneal injection in doses from 60 to 150 mg/kg. The best effect in the corazol antagonism test was observed for O-(isonicotinoyl)oxime of 4-benzoylpyridine (2b), which increased the survival rate of mice to 66.7% at a dose of 12.5 mg/kg (i.p.) and the latent time of the onset of generalized tonic-clonic seizures to 52 sec. Compound 1a has low toxicity in mice ($LD_{50} = 316$ mg/kg, i.p.) at a therapeutic index of 21.

Keywords: 3- and 4-benzoylpyridine oximes; anticonvulsant activity; maximal electroshock test; corazol antagonism test.