

УДК 615.1.015.154

ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ 7- БРОМ-3-ГИДРОКСИ-5-ФЕНИЛ-1,2-ДИГИДРО-3Н-1,4- БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОНА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Радаева И.Н.¹, Кравченко И.А.^{1,2}, Павловский В.И.², Семенишина Е.А.²

¹Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Дворянская, 2,
Одесса, Украина 65026, decanatchem@onu.edu.ua

²Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины,
Люстдорфская дорога 86, Одесса, Украина 65080

Данная работа посвящена изучению противосудорожной активности и фармакологических свойств сложных эфиров 7-бром-3-гидрокси-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она при пероральном введении. Противосудорожный эффект оценивался методом определения минимальных эффективных доз коразола. Фармакологические свойства изучались методами «черно-белой камеры», «вращающегося стержня» и «открытого поля». Было показано, что все полученные сложные эфиры обладают пролонгированной противосудорожной, седативной, анксиолитической активностью.

Ключевые слова: производные 1,4-бенздиазепин-2-она, эфиры, противосудорожная активность, фармакологические свойства.

Введение

Производные 1,4-бенздиазепина относятся к наиболее широко назначаемым транквилизаторам и обладают анксиолитическим, седативным, снотворным и противосудорожным действием.

Несмотря на разнообразие и эффективность существующих транквилизаторов, исследования, направленные на создание новых препаратов данной группы продолжают. В первую очередь, это объясняется потребностями практической медицины в препаратах, обладающих определенным спектром фармакологических свойств. Так, идеальное снотворное средство должно обладать быстрым началом действия, а идеальный противосудорожный препарат должен иметь большой период полужизни. Анксиолитик, используемый эпизодически и только как симптоматическое средство, должен обладать быстро наступающим эффектом. Для применения в общемедицинской практике необходимы дневные транквилизаторы – препараты с выраженным анксиолитическим действием, но не вызывающие в терапев-

тических дозах некоторых седативных эффектов – миорелаксации, нарушения координации движений и оперантной активности и т.д. [1].

Одним из способов разработки новых лекарственных препаратов является химическая модификация биологически активных веществ, приводящее к созданию пролекарств с ожидаемыми свойствами [2].

Пролекарство – это такое фармакологически неактивное вещество, которое в организме в результате химических и (или) биохимических воздействий превращается в истинное лекарственное вещество (родительское), причем это превращение необратимо [3]. Пролекарства должны обладать способностью проникать через биологические мембраны с образованием активного метаболита, который с достаточной скоростью проявляет необходимый фармакологический эффект [4].

Нами были получены новые производные 1,4-бенздиазепина - сложные эфиры 7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она, изучена связь между длиной бо-

ковой углеродной цепи и противосудорожной активностью по антагонизму с коразолом при пероральном введении. Изучены фармакологические характеристики нового производного 1,4-бенздиазепина на моделях поведения животных, напоминающих проявления депрессии у людей и являющиеся селективно чувствительными к осуществлению эффективного антидепрессивного лечения.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы беспородные мыши-самцы весом 15 – 23 г, которые содержались на стандартном рационе при 12-часовом световом режиме, полученные из вивария Одесского национального медицинского университета.

Противосудорожный эффект оценивался методом определения минимальных эффективных доз коразола, вызывающих клонико-тонические судороги (ДКТС) и тоническую экстензию (ДТЭ) у экспериментальных животных при внутривенной инфузии.

Группам животных (4 особи) перорально вводили суспензию эфиров в твиновой эмульсии в дозе 1 мг/кг. Эта доза может считаться оптимальной на основании изучения зависимости «доза-эффект» при пероральном однократном введении. Через определенные промежутки времени оценивали противосудорожную активность производных 1,4-бенздиазепина по увеличению минимальных эффективных доз (МЭД) коразола в сравнении с контрольной группой.

Седативное действие оценивали по методу открытого поля с регистрацией количества пересеченных животным квадратов (горизонтальная активность), количество поднятий на задние лапки (вертикальная активность), количества заглядываний в отверстия (исследовательская активность). Исследование проводилось в течение 3 минут [5].

Анксиолитическое действие изучалось по методу «черно-белой камеры», Регистрировалось время нахождения экспериментальных животных в светлом отсеке и количество выходов из темного в свет-

лый отсек за определенный промежуток времени. Известно, что аксиолитики увеличивают число выходов и время нахождения в светлом отсеке, тогда как контрольные животные предпочитают находиться в темном отсеке [6].

Полученные данные обрабатывались статистически при помощи программы MS Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

Был получен ряд сложных эфиров 7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она и высших алифатических кислот с длиной цепи в пределах от C5 до C17.

Предварительными исследованиями было показано, что доза в 1 мг/кг может считаться оптимальной, так как дальнейшее увеличение дозы не приводит к увеличению фармакологического эффекта препарата, что может быть связано с насыщением бенздиазепиновых рецепторов (рис. 1).

Доза в 1 мг/кг может считаться оптимальной, так как дальнейшее увеличение дозы не приводит к увеличению фармакологического эффекта препарата, что может быть связано с насыщением бенздиазепиновых рецепторов (рис. 1).

Известно, что увеличение длины боковой цепи сложных эфиров алифатических кислот приводит к снижению скорости гидролиза и пролонгированному действию снотворных и анксиолитических средств [7, 8].

В связи с этим исследование противосудорожной активности проводилось в двух интервалах времени – короткого (1 час) и длительного (24 часа), что обусловлено необходимостью изучения динамики фармакологической активности полученных соединений в зависимости от времени после перорального введения (табл. 1).

Было установлено, что при пероральном введении исследуемых соединений в течение короткого промежутка времени их противосудорожная активность была ниже активности исходного соединения (I). Однако, через 24 часа после введения все

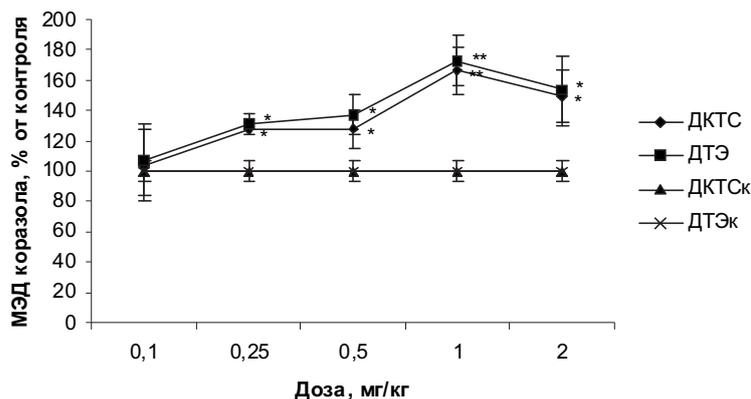


Рис. 1. Зависимость «доза-эффект» каприлового эфира 7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она при пероральном введении (время - 1 час)
 * - $p \leq 0,05$ относительно контроля; ** - $p \leq 0,01$ относительно контроля; *** - $p \leq 0,001$ относительно контроля

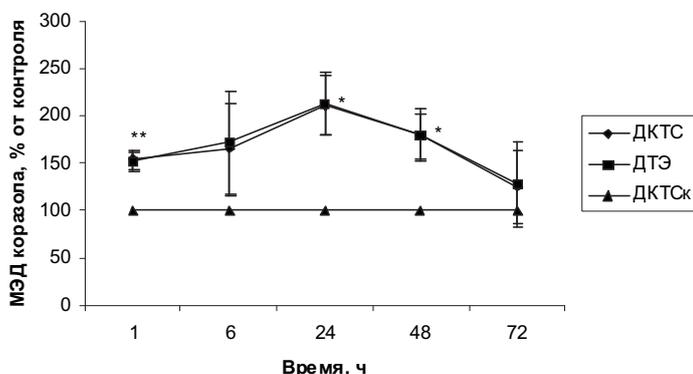


Рис. 2. Динамика противосудорожной активности каприлового эфира 7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она (V) при пероральном введении в дозе 1 мг/кг.
 * - $p \leq 0,05$ относительно контроля; ** - $p \leq 0,01$ относительно контроля

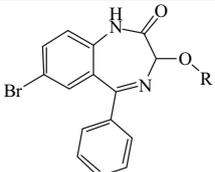
эфиры продемонстрировали более выраженную противосудорожную активность по сравнению с исходным соединением, что свидетельствует о пролонгированном действии сложных эфиров. Так, для родительского соединения I ДКТС и ДТЭ составило 92% и 113%, соответственно, тогда как для соединения V ДКТС составила 211%, а ДТЭ – 213%. Сохранение фармакологической активности сложных эфиров при снижении активности родительского соединения свидетельствует, вероятно, о низкой скорости гидролиза сложных эфиров, что приводит к их пролонгированному действию.

Так как наиболее активным оказалось соединение V, оно было изучено комплексом фармакологических методов. Изучение зависимости «время-эффект» проводилось в интервале от 1 часа до 72 часов. Необходимо отметить, что противосудорожная активность проявляется уже через 1 час и сохраняется на протяжении 72 часов после введения, а максимальный эффект наблюдался через 24 часа после однократного перорального введения (рис. 2). Это свидетельствует о наличии стабильной противосудорожной активности.

При определении двигательной активности (по количеству пересеченных квадратов и стоек) экспериментальных живот-

Таблица 1

Противосудорожная активность сложных эфиров 7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она при пероральном введении (1 мг/кг в молярном эквиваленте к родительскому соединению)

	№ соединения	Минимальная эффективная доза коразола, % от контроля			
		Время после введения, 1 ч		Время после введения, 24 ч	
		ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
Контроль		100,0 ± 6,0	100,0 ± 4,7	100,0 ± 6,0	100,0 ± 4,7
7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она	I	202 ± 15,3***	196 ± 15,7**	92 ± 27,8	113 ± 12,4
R=H	II	130 ± 20,0	125 ± 19,0	188 ± 22,4*	172 ± 21,4*
R=CO(CH ₂) ₄ -CH ₃	III	158 ± 12,3**	145 ± 12,6*	162 ± 8,3***	149 ± 7,7**
R=CO(CH ₂) ₅ -CH ₃	IV	173 ± 13,0**	158 ± 10,0**	156 ± 7,1***	147 ± 6,9**
R=CO(CH ₂) ₆ -CH ₃	V	154 ± 10,6**	151 ± 10,4**	211 ± 30,7*	213 ± 33,4*
R=CO(CH ₂) ₁₀ -CH ₃	VI	187 ± 18,9**	183 ± 18,6**	173 ± 12,6**	160 ± 9,1**
R=CO(CH ₂) ₁₂ -CH ₃	VII	149 ± 9,9**	137 ± 9,8*	196 ± 20,7**	177 ± 17,0**
R=CO(CH ₂) ₁₄ -CH ₃	VIII	191 ± 29,5*	177 ± 26,7*	156 ± 5,3**	143 ± 6,2**
R=CO(CH ₂) ₁₆ -CH ₃	IX	164 ± 5,0***	148 ± 5,0***	147 ± 25,1	138 ± 25,9

* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$ (относительно контроля)

Анксиолитическая активность соединения V при пероральном введении, тест «черно-белая камера»

Таблица 2

Время, ч	Нахождение в светлом отсеке, % от контроля	Количество выходов в светлый отсек, % от контроля
Контроль	100 ± 3,1	100 ± 4,4
1	157 ± 2,6**	114 ± 1*
3	28,5 ± 1,8***	29 ± 5,1***
6	118,5 ± 9,5	23 ± 2,3*
24	137,5 ± 7,9**	74 ± 1,9
30	308,5 ± 5,7***	34 ± 2,5*
48	311 ± 6,1***	56 ± 7,2
72	300 ± 5,8***	61 ± 4,3

* - $p \leq 0,05$ относительно контроля; ** - $p \leq 0,01$ относительно контроля; *** - $p \leq 0,001$ относительно контроля

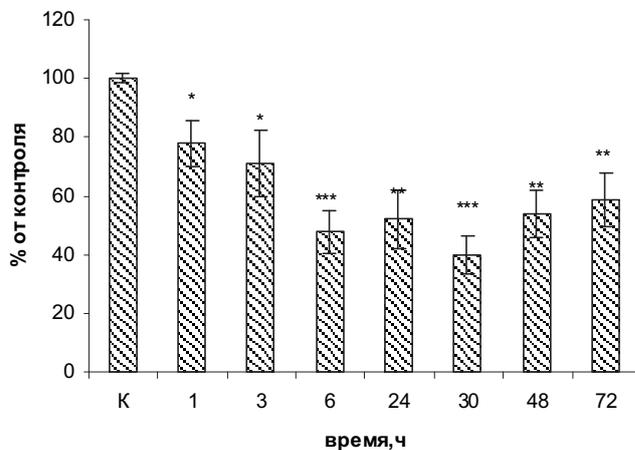


Рис. 3. Спонтанная двигательная активность животных (вертикальные перемещения) при пероральном однократном введении соединения V.

* - $p \leq 0,05$ относительно контроля; ** - $p \leq 0,01$ относительно контроля; *** - $p \leq 0,001$ относительно контроля

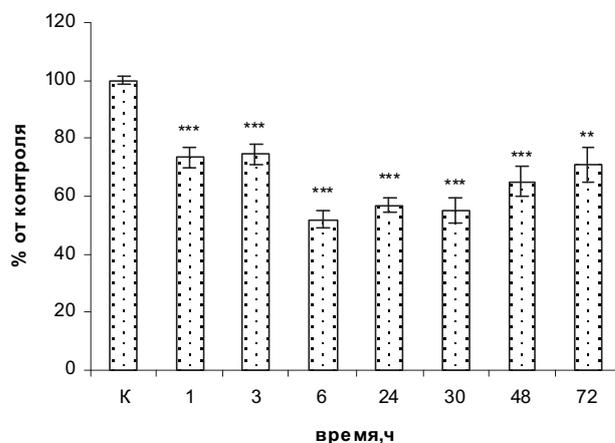


Рис. 4. Спонтанная двигательная активность животных (горизонтальные перемещения) при пероральном однократном введении соединения V.

* - $p \leq 0,05$ относительно контроля; ** - $p \leq 0,01$ относительно контроля; *** - $p \leq 0,001$ относительно контроля

ных после однократного перорального введения соединения V в дозе 1 мг/кг в интервале от 1 ч до 72 ч наблюдается снижение двигательной активности по сравнению с контролем, что свидетельствует о пролонгации седативного

действия эфира. К 48 часам наблюдается небольшое усиление двигательной активности, что объясняется, вероятно, процессом элиминации соединений из организма и, соответственно, снижением его концентрации в организме экспериментальных животных (рис. 3,4).

Известно, что наиболее чувствительной моделью для изучения анксиолитической активности является черно-белая камера [9].

Данные, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о наличии у исследуемого препарата анксиолитической активности, что проявляется в увеличении времени нахождения экспериментальных животных в светлом отсеке. Как следует из приведенных выше данных, к 24 часам после перорального введения значительно возросло время нахождения животных в светлом отсеке камеры.

Миорелаксantный эффект изучался по методу «вращающегося стержня». Необходимо отметить, что в интервале от 1 до 72 ч после перорального введения препарата миорелаксantный эффект отсутствовал у всех сложных эфиров, за исключением соединений I и II, у которых он регистрировался в первые часы после введения.

Выводы

Таким образом, в результате проведенного исследования было показано, что все полученные сложные эфиры обладают пролонгированной противосудорожной, седативной, анксиолитической активностью при отсутствии эффекта миорелаксации.

Литература

1. Андронати С. А., Воронина Т.А., Н.Я. Головенко. Гидазепам. Киев: Наукова Думка, 1992. – 196 с.
2. Питровский Л.Б., Думкиус М.А. Пролекарства: цели, принципы и перспективы // Фармакология и токсикология. – 1988. - № 6. – С. 17-25
3. Головенко Н.Я., Кравченко И.А. Биохимическая фармакология пролекарств : Монография. – Одесса: Экология, 2007. – 360 с.
4. Stella V.I., Haringrekar V.H., Charman W.N. Trends in prodrugs research // Pharm. Int. – 1984. – Vol. 5, N 11. – P/ 276-279
5. Лапин И.Г. Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики/ И.Г. Лапин/ Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2000. – Т. 63, - №3. – С. 58-62.
6. Лапин И.Г. Уменьшение частоты выгладываний из темного отсека – единственный постоянный показатель влияния анксиогенов на поведение мышей в камере «свет-темнота» // Журнал ВНД им. И.П.Павлова. – 1999. – Т.49, № 3. – С. 521-526.
7. Андронати С.А. Медицинская химия. – Одесса: Астропринт, 2006. – 131 с.
8. А.В.Ляховский. Связь структура-аффинитет в ряду сложных эфиров 3-гидрокси-14-бенздиазепин-2-она// Вестник психиатрии и психофармакотерапиию – 2010. - № 2 (18).
9. Calataund F., Belzung C. Emotional reactivity in mice, a case of non-genetic heredity // Physiol. Behav. – 2001. – Vol.74. – P. 355-362.

Резюме

ПРОТИСУДОМНА АКТИВНІСТЬ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕСТЕРІВ 7-БРОМ-3-ГИДРОКСИ-5-ФЕНІЛ-1,2-ДИГІДРО-3Н-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНУ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ

Радаєва І.М., Кравченко І.А., Павловський В.І., Семенішина К.О.

Дана робота присвячена вивченню протисудомної активності і фармакологічних властивостей складних естерів 7-бром-3-гидрокси-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-она при пероральному введенні. Протисудомний ефект оцінювався методом визначення мінімальних ефективних доз коразолу. Фармакологічні властивості вивчалися методами «чорно-білої камери», «обертового стрижня» та методом «відкритого поля». Було показано, що всі отримані складні естери мають пролонговану протисудомну, седативну, анксиолитичну активність.

Ключові слова: похідні 1,4-бенздіазепін-2-ону, естери, протисудомна активність, фармакологічні властивості.

Summary

ANTICONVULSANT ACTIVITY AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES ESTERS 3-HYDROXY-7-BROM-5-PHENYL-1,2-DIHYDRO-3H-1,4-BENZDIAZEPIN-2-ONES FOR ORAL DELIVERY

Radaeva I.N., Kravchenko I.A., Pavlovsky V.I., Semenishina E.A.

This work is devoted to the study of anticonvulsant activity and pharmacological properties of the esters for oral delivery. Anticonvulsant effect was evaluated by determining the minimum effective dose Corazol. Pharmacological properties were studied by methods of “black and white camera,” “rotating rod” and the method of “open field”. It was shown that all the resulting esters have prolonged anticonvulsant, sedative, anxiolytic action.

Keywords: 1,4-benzdiazepin-2-ones, esters, anticonvulsant activity, pharmacological properties.

Впервые поступила в редакцию 10.07.2012 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования