УДК 615.012.1:[542.9+615.214]

К ВОПРОСУ О ПСИХОТРОПНЫХ СВОЙСТВАХ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФОСФОРИЛАЦЕТОГИДРАЗИДОВ – СОЛЕЙ АРИЛФОСФИНОВЫХ КИСЛОТ

Никитин Д.О.[1], Никитина А.В.[1], Семина И.И.[1], Байчурина А.З.[1], Садыкова Р.Г.[1], Овчинникова А.Г.[1], Крутов И.А.[2], Габдрахманова Д.Ф.[2], Бурангулова Р.Н.[2], Гаврилова Е.Л.[2]

[1] ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России, Казань, e-mail: seminai@mail.ru;
[2]Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, e-mail: Cat_the_chemist@mail.ru

Осуществлен синтез новых производных фосфорилацетогидразидов – солей арилфосфиновой кислоты, определена «острая» токсичность новых соединений при внутрибрюшинном введении мышам, проведен компьютерный прогноз их психотропных свойств и экспериментально изучены некоторые стороны психотропной активности в дозах, составляющих 1/50 и 1/100 ЛД50. Установлено, что соли этилового эфира глицина и (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновой кислоты являются менее токсичными по сравнению с солями гидразида D,L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил) арилфосфиновой кислоты. Кроме того, картина общего действия при внутрибрюшинном введении солей гидразида D,L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил) арилфосфиновой кислоты в летальных дозах характеризовалась выраженными клонико-тоническими судорогами и летальным исходом в течение 2-3 часов. Компьютерный прогноз активности соединений по программе PASS online (Prediction of Activity Spectra for Substances) показал вероятность наличия анксиолитической, мнемотропной и антидепрессивной активности. Показано, что большинство соединений в дозах, составляющих 1/100 от ЛД50, повышают исследовательскую активность мышей на модели «открытое поле», увеличивая количество заглядываний в отверстия, в более высоких дозах (1/50 от ЛД50) проявляют противотревожные свойства на модели «приподнятый крестообразный лабиринт», удлиняя периоды нахождения в «открытых рукавах» лабиринта, обладают антидепрессивной активностью на модели «поведенческое отчаяние», снижая длительность периодов «замирания». Сделан вывод о целесообразности продолжения изучения психотропной активности новых производных - солей фосфорилацетогидразидов соединений на поведенческих моделях, включая исследование влияния эффектов соединений на процессы обучения и памяти, когнитивные функции, антидепрессивные, анксиолитические и стресспротективные свойства.

Ключевые слова: соли арилфосфиновой кислоты, компьютерный прогноз, анксиолитическая активность, крестообразный лабиринт, «открытое поле», антидепрессивное действие.

ON THE QUESTION OF THE PSYCHOTROPIC PROPERTIES OF NEW DERIVATIVES OF PHOSPHORYLACETHYDRAZIDES - SALTS OF ARYLPHOSPHINE ACIDS

Nikitin D.O.[1], Nikitina A.V.[1], Semina I.I.[1], Baichurina A.Z.[1], Sadykova R.G.[1], Ovchinnikova A.G.[1], Krutov I.A.[2], Gabdrakhmanova D.F.[2], Burangulova R.N.[2], Gavrilova E.L.[2]

[1]Kazan State Medical University, Kazan, e-mail: seminai@mail.ru;
[2] Kazan National Research Technological University, Kazan, e-mail: Cat_the_chemist@mail.ru

Synthesis of new derivatives of phosphorylacetohydrazides - arylphosphinic acid salts, the "acute" toxicity of new compounds with intraperitoneal administration to mice was determined, a computer forecast of their psychotropic properties was made and some aspects of psychotropic activity in doses of 1/50 and 1/100 LD50 were experimentally studied. It has been established that the salts of ethyl glycine and (2-ethoxy-2-oxoethyl) arylphosphonic acid are less toxic than salts of hydrazide D, L-alanine and (2-hydrazino-2-oxoethyl) arylphosphonic acid. In addition, the picture of the general effect of intraperitoneal administration of salts of hydrazide D, L-alanine and (2-hydrazino-2-oxoethyl) arylphosphonic acid in lethal doses was characterized by pronounced clonic-tonic spasms and lethal outcome within 2-3 hours. The computer predicted the activity of the PASS online connections (Prediction of Activity Spectra for Substances) showed the probability of an anxiolytic, mnemotropic and antidepressant activity. It was shown that the majority of compounds at doses equal to 1/100 of LD50 increase the research activity of mice in the open field model, increasing the number of holes in the holes, at higher doses (1/50 of LD50), show anti-anxiety properties on the model "elevated cross-shaped labyrinth ", extending the periods of being in the" open arms "of the labyrinth, have antidepressant activity on the model of" behavioral despair ", reducing the duration of periods of" fading ". The conclusion is made about the expediency of continuing the study of the psychotropic activity of new derivatives - the salts of

phosphorylacetohydrazide compounds on behavioral models, including the study of the effect of compounds on learning and memory processes, cognitive functions, antidepressant, anxiolytic and stress protective properties.
Keywords: salt of arylphosphine acid, computer prediction, anxiolytic activity, the plus maze, open field, the antidepressant effects.

В настоящее время в мире широко разрабатываются лекарственные препараты, улучшающие психические функции при различных поражениях мозга, но, к сожалению, до сих пор медицина не располагает высокоэффективными средствами для лечения этих повреждений [1]. Производные фосфорилированных карбоновых кислот, содержащие четырехкоординированный атом фосфора в составе фосфорильного фрагмента, привлекают внимание исследователей в качестве потенциальных психотропных препаратов [2]. Ранее были описаны психотропные эффекты замещенных и незамещенных фосфорилацетогидразидов [3] и выявлены основные фармакофоры, отвечающие за психотропные свойства. Интерес к фосфорсодержащим соединениям обусловлен тем, что в составе фосфорильного фрагмента содержится несколько функционально активных групп, каждая из которых может иметь свою точку приложения в патологическом процессе, обеспечивая тем самым комплексный механизм действия при психических расстройствах.

Цель настоящей работы – осуществить компьютерный прогноз психотропных свойств новых производных фосфорилированных карбоновых кислот, синтезированных с использованием полученных ранее сведений о фармакофорах, и экспериментально изучить некоторые стороны их психотропной активности.

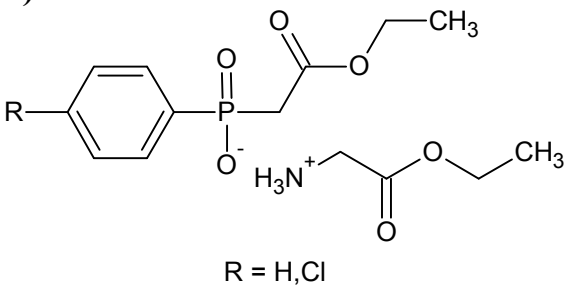
Материалы и методы исследования

Объектами исследований явились 2 типа соединений:

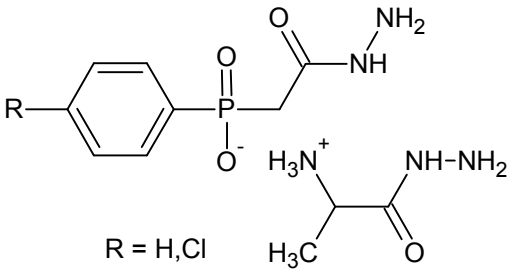
1) соединения, полученные реакцией арилфосфиновой кислоты и этилового эфира глицина - соли этилового эфира глицина и (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (данную структуру имеют соединение В-2 (R=H) и соединение В-3 (R=Cl));

2) соединения, полученные гидрозинолизом соответствующих солей арилфосфиновой кислоты и этилового эфира D,L-аланина - соли гидразида D,L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (данную структуру имеют соединение В-1 (R=H) и соединение В-4 (R=Cl)).

1)



2)



(соединения В-2 (R=H) и В-3 (R=Cl) (соединения В-1 (R=H) и В-4 (R=Cl)

Для оптимизации скрининга психотропной активности был проведен компьютерный прогноз активности данных соединений с использованием компьютерной программы PASS online (Prediction of Activity Spectra for Substances) [4], применимость которой к данному классу соединений была доказана ранее. Результаты прогноза вероятной биологической активности представлены в виде списка видов активностей с расчетными оценками вероятности наличия (Pa) или отсутствия (Pi) от 0 до 1.

Фармакологические исследования были проведены согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [5].

В исследованиях использовано 448 белых нелинейных мышей-самцов массой 18-24 г. До начала экспериментов все животные содержались в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997), а также правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ З 51000.3-96 и 51000.4-96). Все исследования были одобрены комитетом по этической экспертизе.

Исследование «острой» токсичности соединений проведено согласно методу Беренса с графическим вычислением $ЛД_{50}$. Каждая доза вводилась внутрибрюшинно 6 мышам.

При исследовании психотропной активности вещества вводили внутрибрюшинно за 30 мин. до тестирования в дозах, составляющих 1/100 и 1/50 от $ЛД_{50}$. Контрольным группам животных вводили соответствующие объемы физиологического раствора.

Для изучения двигательной и исследовательской (ориентировочной) реакции животных использовали метод «открытое поле» [6] на установке «открытое поле» (НПК «Открытая наука», Москва, Россия). О наличии или отсутствии анксиолитической активности судили по продолжительности пребывания животного в открытых рукавах лабиринта согласно методу [7]. В качестве препарата сравнения использовали внутрибрюшинные инъекции транквилизатора феназепама 0,25 мг/кг (ОАО «Валента фармацевтика», Россия). Об эффективности соединений судили по числу пересеченных линий (двигательная активность) и заглядываний в отверстия (исследовательская активность) [8; 9]. Для оценки анксиолитических свойств соединений использовали модель «приподнятый крестообразный лабиринт» (НПК «Открытая наука», Москва, Россия).

Исследование антидепрессивной активности соединений проводили на модели «поведенческое отчаяние» [10]. Критерием эффективности являлась длительность периодов

«замирания» мышей, принужденных плавать в ограниченном пространстве.

Фиксация поведенческих изменений осуществлялась при помощи цифровой видеосистемы с использованием компьютерной программы Ethovision XT фирмы Noldus (Нидерланды) с автоматическим способом анализа треков, что позволило получить точную количественную оценку динамики формирования поведенческих навыков животного в ходе опыта.

Результаты экспериментов обрабатывали статистически с вычислением t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

$ЛД_{50}$ соединений при внутрибрюшинном введении белым мышам представлены в таблице 1. Наименьшей токсичностью обладают соли этилового эфира глицина и (2-этокси-2-оксоэтил) арилфосфиновой кислоты - соединения В-2 и В-3. Картина общего действия при введении этих веществ в токсических дозах характеризовалась общим угнетением и гибелью в течение суток. Соединения, полученные гидрозинолизом соответствующих солей арилфосфиновой кислоты и этилового эфира D,L-аланина - соли гидразида D,L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (В-1 и В-4), являются более токсичными, а картина общего действия при введении этих веществ в летальных дозах характеризовалась выраженными клонико-тоническими судорогами и гибелью в течение 2-3 часов. Анализ химической структуры двух групп соединений показал, что повышением токсичности и появлению клонико-тонических судорог соединения В-1 и В-4 обязаны наличием в их химической структуре гидразидной группы.

Таблица 1

Показатели «острой токсичности» солей арилфосфиновой кислоты при внутрибрюшинном введении белым мышам

№	Вещество	$ЛД_{50}$ (Мг/кг)
1	В1	1550 ± 210
2	В2	2100 ± 320
3	В3	3050 ± 295
4	В4	1220 ± 160

С целью оптимизации скрининга психотропной активности соединений был осуществлен компьютерный прогноз с использованием программы PASS. Результаты вероятной биологической активности представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты компьютерного прогноза программы PASS

Шифр соединения	Мнемотропная активность		Антидепрессивная активность		Анксиолитическая активность	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
B1	0,834	0,012	0,521	0,081	0,604	0,002
B2	0,683	0,008	0,612	0,005	0,922	0,004
B3	0,771	0,018	0,641	0,045	0,952	0,003
B4	0,8	0,017	0,524	0,08	0,385	0,062

Как видно из таблицы 2, для всех соединений характерна вероятность проявления анксиолитической, мнемотропной и антидепрессивной активности. Так, для солей этилового эфира глицина и (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (В-2 и В-3) в наибольшей степени характерно наличие анксиолитического действия (Pa=0,922-0,952), а для солей гидразида D,L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (В-1 и В-4) - мнемотропных свойств (Pa=0,834-0,800). Для всех соединений прогноз показывает небольшую вероятность проявления и антидепрессивного действия (Pa от 0,641 до 0,521).

Согласно компьютерному прогнозу было проведено сравнительное экспериментальное исследование психотропной активности соединений.

Результаты изучения поведения мышей в «открытом поле» при введении соединений представлены на рисунках 1 и 2.

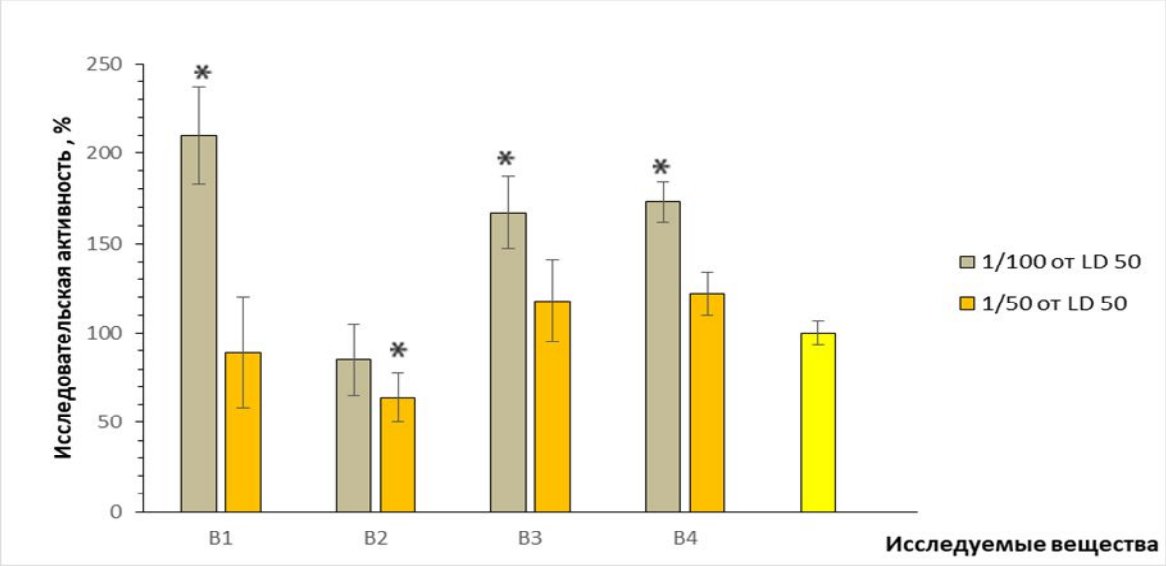


*Рис. 1. Исследовательская активность мышей в открытом поле при внутрибрюшинном введении исследуемых соединений: по оси ординат – количество обследованных отверстий в % по отношению к контролю, принятому за 100%; по оси абсцисс – шифр веществ; *- p <0.05*

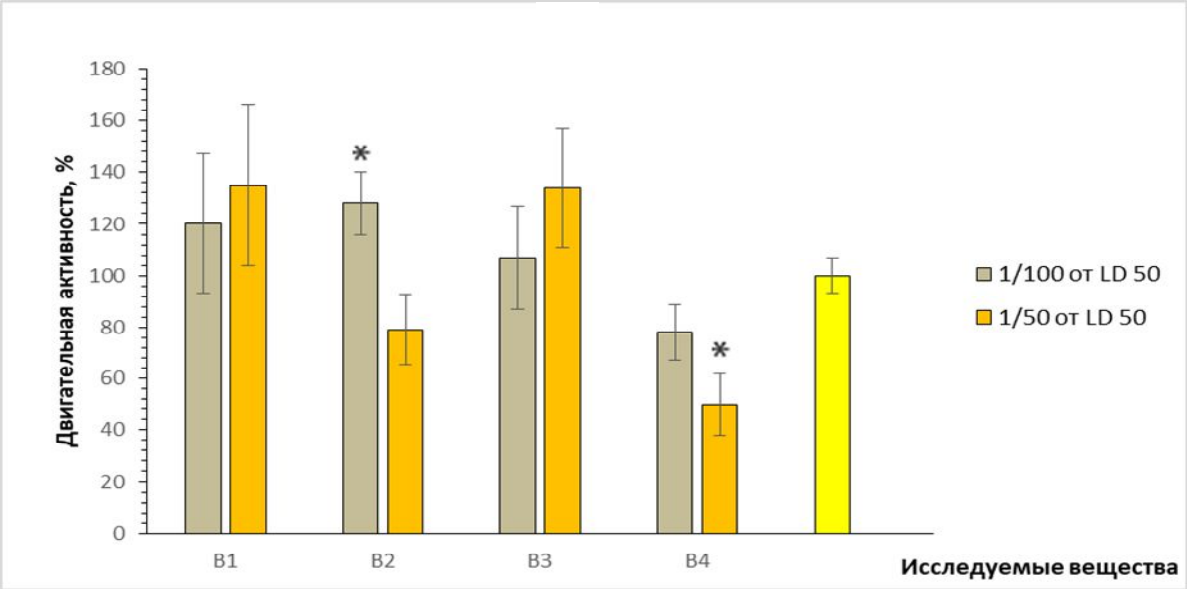


*Рис. 2. Двигательная активность мышей в открытом поле при внутрибрюшинном введении исследуемых соединений: по оси ординат – число пересеченных линий в % по отношению к контролю, принятому за 100%; по оси абсцисс – шифр веществ; *- p <0.05*

Преимущественно для всех соединений (за исключением В-2) в наименьшей дозе (1/100 ЛД$_{50}$) характерна стимуляция исследовательского поведения (увеличение количества обследованных отверстий). В более высоких дозах этот эффект не проявлялся, а при введении соединения В-2, напротив, отмечалось снижение исследовательского поведения (рис. 1). Что касается анализа результатов двигательной активности мышей в «открытом поле» (рис. 2), здесь не отмечено особых отличий от группы контрольных животных, за исключением соединения В-4, введение которого приводило к уменьшению количества пересеченных линий на 50% (p<0,05).

Поскольку для всех соединений программа PASS в той или иной степени прогнозировала наличие анксиолитической активности, нами была проведена оценка их влияния на поведение мышей в приподнятом «крестообразном лабиринте». Результаты представлены на рисунке 3. Из рисунка видно, что соединения В-2 и В-4 в дозах, составляющих 1/50 от ЛД$_{50}$, увеличивают продолжительность нахождения мышей в «открытых рукавах» лабиринта на 50 и 30% соответственно (P<0,05), что свидетельствует о возможной анксиолитической активности, сопоставимой с таковой феназепама 0,25 мг/кг.

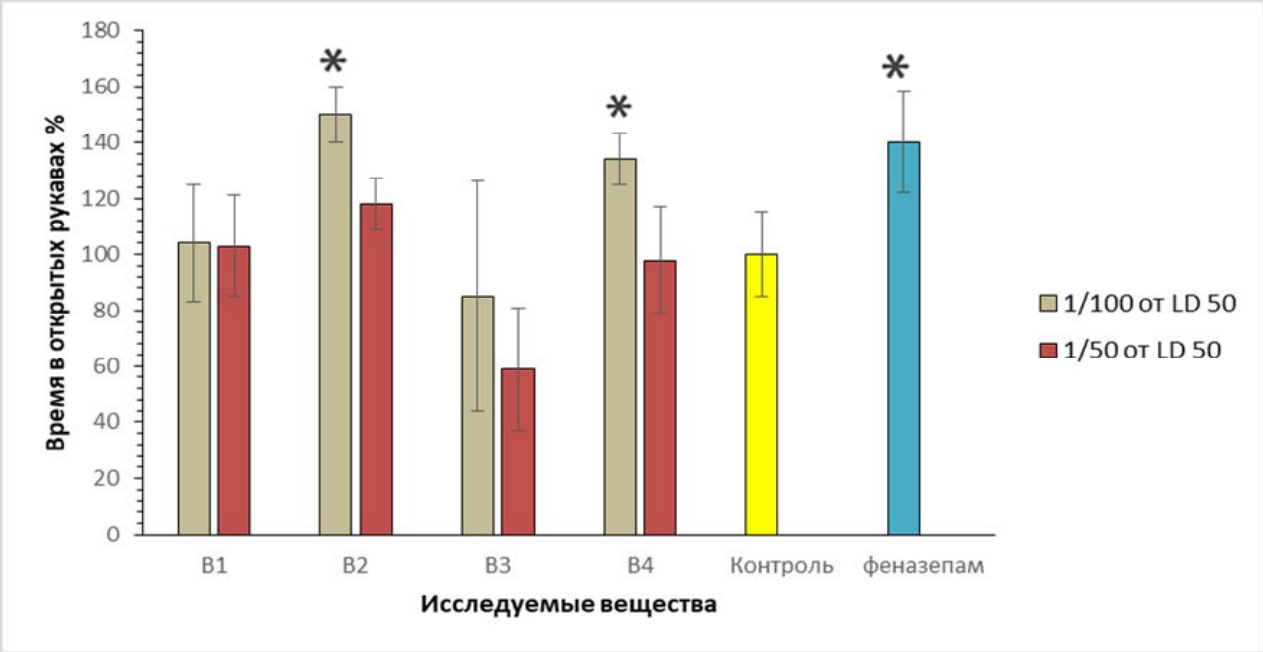


*Рис. 3. Оценка времени пребывания животных в открытых рукавах на модели «приподнятый крестообразный лабиринт»: по оси ординат – время пребывания в открытых рукавах в % по отношению к контролю, принятому за 100%; по оси абсцисс – шифр веществ; *- p <0.05*

Учитывая, что наличие антидепрессивной активности характерно как для самих фосфорилацетогидразидов [11], так и для их производных в виде солевых структур с различным характером анионов и катионов, а вероятность проявления антидепрессивного действия исследуемых веществ предполагает и программа PASS, нами проведена оценка их эффектов на модели «поведенческое отчаяние».

Результаты экспериментов показали наличие антидепрессивного действия только у соединения В-3, тогда как соли гидразида D,L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (В-1 и В-4) оказались неэффективными при введении в исследуемых дозах (рис. 4).

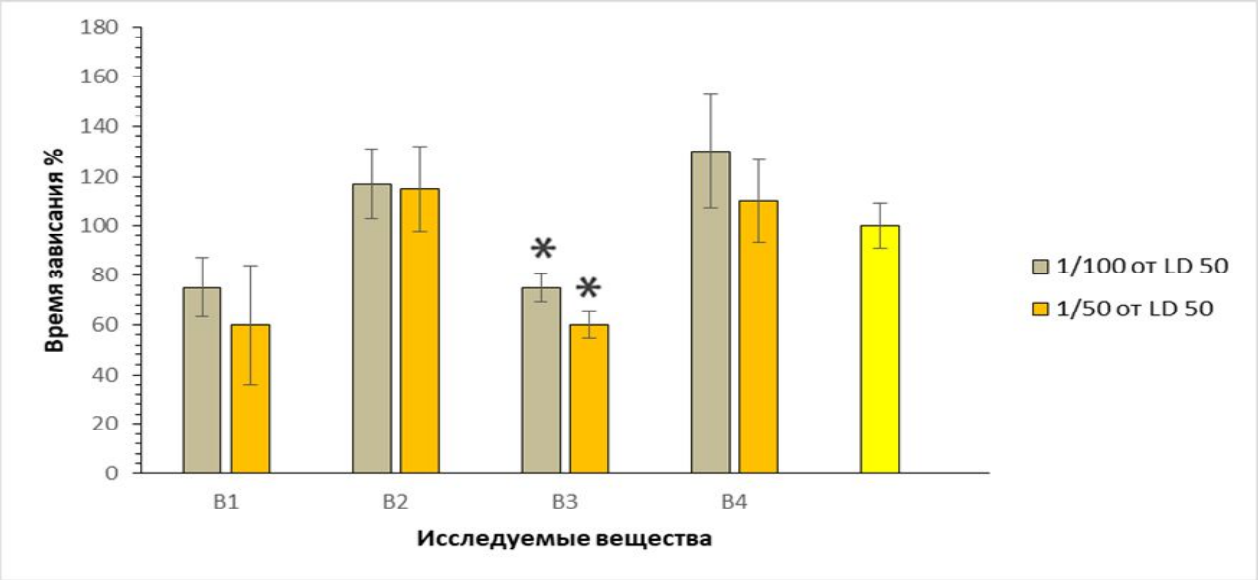


*Рис. 4. Время замирания мышей на модели «поведенческое отчаяние» в % по отношению к контролю, принятому за 100%; по оси абсцисс – шифр веществ; *- p <0.05*

Таким образом, проведенные исследования показали, что новые производные фосфорилацетогидразидов - соли арилфосфиновой кислоты являются малотоксичными соединениями и проявляют психотропные свойства, характер которых зависит от их химической структуры. Результаты экспериментов свидетельствуют о целесообразности проведения направленного синтеза и изучения психотропной активности в рядах производных арилфосфиновой кислоты.

Выводы

1. Соли этилового эфира глицина и (2-этокси-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (соединения В-2 и В-3) являются менее токсичными по сравнению с солями гидразида D,L-аланина и (2-гидразино-2-оксоэтил)арилфосфиновой кислоты (соединения В-1 и В-4).

2. Соединения В-1, В-2 и В-4 в дозах, составляющих 1/100 от ЛД$_{50}$, повышают исследовательскую активность мышей в «открытом поле», что предполагает наличие стимулирующего действия на центральную нервную систему.

3. Для соединений В-2 и В-4 в дозах, составляющих 1/50 от ЛД$_{50}$, характерны анксиолитические свойства, выявленные на модели «приподнятый крестообразный лабиринт».

4. Учитывая полученные результаты, целесообразно продолжить изучение психотропной активности соединений на поведенческих моделях, включая исследование на процессы обучения и памяти, антидепрессивные и анксиолитические свойства.

Список литературы

1. Ramos M.A. Drugs in context: a historical perspective on theories of psychopharmaceutical efficacy. Journal of Nervous and Mental Disease. 2013. Vol. 11. P. 926-933.
2. Шиловская Е.В., Семина И.И., Тарасова Р.И., Байчурина А.З., Пашина И.П., Воскресенская О.В., Фаттахов Ш.А., Газизов М.В., Гараев Р.С. Компьютерный прогноз, синтез и психотропные свойства гидразиниевых солей фосфорилацетогидразидов // Хим.-фарм. журн. 2013. Т. 47. № 4. С. 26-29.
3. Макарова Е.А., Семина И.И., Байчурина А.З., Шиловская Е.В., Тарасова Р.И., Мустафин Р.И. Изучение психотропной активности производных арил (гидразинокарбонилметил) фосфиновых кислот // Фундаментальные исследования. 2015. № 2-7 . С. 1407-1411.
4. Poroikov V.V. Computer-assisted prediction and design of multitargeted drugs. Medicinal Chemistry Research. 2010. Vol. 19. № 1. P. 30.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, Часть 1 / Под ред. А.Н. Миронова. М.: ГрифиК, 2012, 944 с.
6. Adriaan J., Spiga F., Staub D.R., Hale M.W., Shekhar A., Lowry C.A. Differential effects of exposure to low-light or high-light open-field on anxiety-related behaviors: relationship to c-Fos expression in serotonergic and non-serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus. Brain research bulletin. 2007. Vol. 72. no. 1. P. 32-43.
7. Walf A.A., Frye C A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. Nature protocols. 2007. Vol. 2. no 2. P. 322.
8. Sestakova N., Puzserova A., Kluknavsky M., Bernatova I. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. Interdisciplinary toxicology. 2013. Vol. 6. no 3. P. 126-135.
9. Martin-Arenas F.J., Pintado C.O. Results of the Open Field Test at different light intensities in C57 mice. Proceedings of Measuring Behavior. 2014. P. 1-5.
10. Gould T.D. Mood and Anxiety Related Phenotyes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests. Volume 2. N.Y.: Humana press, 2011. 382 p.
11. Семина И.И., Шиловская Е.В., Тихонова Н.А., Байчурина А.З., Шиловская Е.В., Тарасова Р.И., Гараев Р.А. Психотропная активность незамещенных производных фосфорилацетогидразидов // Хим.-фарм. журн. 2002. Т. 36. № 2. С. 3-5.