

СКРИНИНГ ПРОТИВОСУДОРОЖНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИН-4(3Н)-ОНА

[А. И. Северина¹](#), [О. О. Скупая^{1,2}](#), [В. А. Георгиянц¹](#), [Н. И. Волощук²](#)

¹Национальный фармацевтический университет (г. Харьков, Украина)

²Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова (г. Винница, Украина)

Скрининг противосудорожной активности ряда производных пиримидин-4(3Н)-она был спланирован на основе данных предварительного прогноза биологической активности синтезированных соединений, проведенного с помощью компьютерной программы PASS. По результатам исследований наибольшую противосудорожную активность на модели пентилентетразоловых судорог показали производные N-арил-3-(2-изопропил-5,6-R-пиримидин-4(3Н)-он)ацетамида и N-арил-4-(2,6-R-пиримидин-4-тио)ацетамида. По активности данные вещества сопоставлялись с фенобарбиталом (в 100 % случаев профилактировали развитие судорог) и превосходили ламотриджин.

Ключевые слова: производные пиримидин-4(3Н)-она, фармакологический скрининг, противосудорожная активность.

Северина Анна Ивановна — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии Национального фармацевтического университета, г. Харьков (Украина), контактный телефон: 0572-64-20-81, e-mail: severina.anna@rambler.ru

Скупая Ольга Олеговна — ассистент кафедры фармацевтической химии Винницкого национального медицинского университета им. Н.И. Пирогова, г. Винница (Украина), соискатель кафедры фармацевтической химии Национального фармацевтического университета, г. Харьков (Украина), контактный телефон: 0432-52-46-99, e-mail: olga.skupa@gmail.com

Георгиянц Виктория Акоповна — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии Национального фармацевтического университета, г. Харьков (Украина), контактный телефон: 0572-68-09-17, e-mail: vgeor@ukr.net

Волощук Наталья Ивановна — доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии Винницкого национального медицинского университета им. Н.И. Пирогова, г. Винница (Украина), контактный телефон: 0432-57-49-29, e-mail: natkafarm@yandex.ru

Введение. Эпилепсия — одно из наиболее частых и опасных нарушений деятельности мозга во всем мире. По данным комиссии Международной противоэпилептической лиги (International League Against Epilepsy — ILAE), в большинстве развитых стран мира ежегодно регистрируется 50–70 случаев заболеваемости на 100 тыс. населения [5]. Каждая клиническая форма этого заболевания характеризуется своим механизмом развития, потому результативность лечения в значительной степени зависит от правильно подобранной противоэпилептической терапии. На сегодняшний день существует значительный арсенал препаратов для лечения эпилепсии, однако не все они имеют одинаковую специфическую активность, и кроме того, обладают целым рядом побочных эффектов, что значительно усложняет процесс лечения [2]. В то же время у 15-20 % пациентов эпилепсия отличается фармакорезистентностью [1, 4, 8]. Поэтому существует необходимость дальнейшего поиска новых противоэпилептических препаратов, которые бы обладали высокой терапевтической активностью и имели достаточный профиль безопасности, т. е. обеспечивали эффективный и безопасный контроль за приступами.

Одним из направлений в создании новых противоэпилептических препаратов является поиск и разработка биологически активных соединений на основе различных гетероциклических систем. Наше внимание привлек класс производных пириимидин-4(3H)-она, которые известны широким спектром биологической активности. Среди соединений данного класса найдены вещества с разнонаправленным действием на центральную нервную систему, в том числе и противосудорожной активностью [9].

Цель нашей работы: проведение скрининговых исследований противосудорожной активности новых производных пириимидин-4(3H)-она, полученных в лаборатории кафедры фармацевтической химии Национального фармацевтического университета, г. Харьков.

Предварительно синтезированные 2,5,6-замещенные производные пириимидин-4(3H)-она (1) нами были использованы как исходные вещества для синтеза целого ряда соединений. На их основе путем химических превращений получены 4-хлоро- (2) и 4-гидразинилпириимидины (3), 4-(N-арилпиперазин-1-ил)пириимидины (4), N-арил-4-(2,6-R-пириимидин-4-тио)ацетамида (5), а также N- и O-алкилированные производные пириимидин-4(3H)-она (6, 7) (см. рис.).

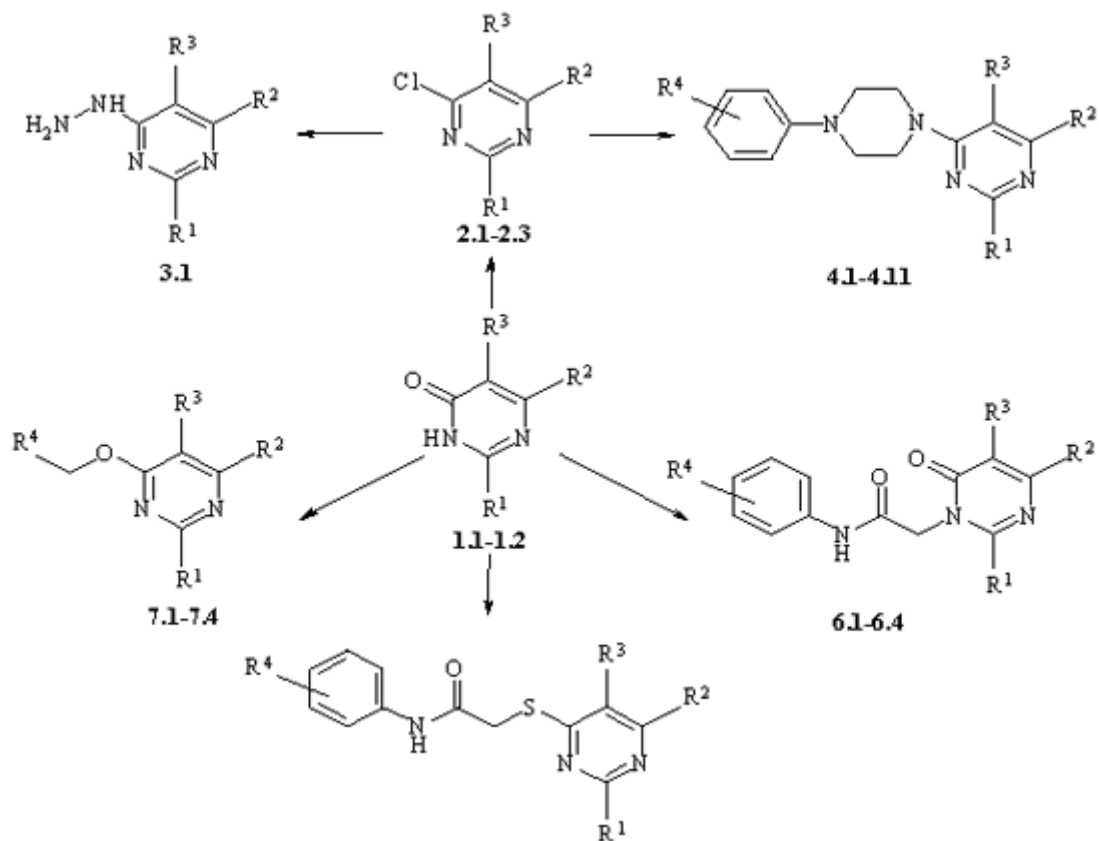


Схема получения производных пиримидин-4(3H)-она

Структура соединений подтверждена методами УФ-, ИК-, ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии. На основании предварительного PASS-прогноза биологической активности синтезированных соединений [7] нами были отобраны ряд веществ для проведения фармакологического скрининга.

Материалы и методы. Исследования прогнозируемой фармакологической активности выполнены на белых нелинейных крысах-самцах массой 150–180 г в лаборатории кафедры фармакологии Винницкого национального медицинского университета им. Н.И. Пирогова (г. Винница, Украина). Крысы были распределены на группы по 7 животных в каждой. Животным опытных групп интрагастрально однократно вводили исследуемые соединения в дозе 50 мг/кг, ламотриджин («Ламіктал» GlaxoSmithKline) и фенобарбитал в дозе 20 мг/кг на 1 % крахмальном геле. Контрольная группа получала эквивалентные количества растворителя. Судорожное состояние у животных моделировали путем однократного подкожного введения пентилентетразола (коразола) («Sigma», США) в дозе 80 мг/кг. Определение времени тестирования базировалось на данных о пике противосудорожной активности препаратов [3]. О выраженности противосудорожного действия судили по динамике латентного периода судорог, характеру и длительности судорог в минутах, а также показателю летальности. Исследуемые соединения и референс-препараты вводили за 1 час до введения конвульсанта. Интенсивность судорожного приступа оценивали при помощи 5-бальной шкалы [6]: 0 — отсутствие судорожной активности; 1 — гиперкинезия; 2 — дрожание, подергивание; 3 — клонические судороги передних лап с подъемом на задние лапы; 4 — выраженные тонико-клонические судороги, падение животного на бок, наличие фазы тонической экстензии; 5 — повторные клонико-тонические судороги, утрата позы, гибель. Противосудорожным действием считали защиту животных от развития клонических, тонических судорог и летальности. Статистическую обработку результатов выполняли

с помощью Origin 7.5 (OriginLab Corp., США) и Microsoft Excel XP. Сравнение полученных величин проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Изменения считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты показали, что в контрольной группе животных после введения коразола длительность латентного периода судорог составила в среднем 5,43 мин, а длительность судорог — 6,29 мин (см. табл.). Судорожный синдром, который развивался у крыс этой группы, сопровождался выраженными тонико-клоническими конвульсиями, которые периодически повторялись, присутствовала четко выраженная фаза тонической экстензии (опистотонус). Летальность в данной группе составила 100 %. Фенобарбитал (8) препятствовал развитию судорожного синдрома у всех животных, в то же время на фоне введения крысам ламотриджина (9), пентилентетразол вызывал некоторые проявления судорожного состояния (судорожные подергивания, прыжки и тонические сокращения передних конечностей), хотя длительность латентного периода статистически достоверно удлинялась (в 5,4 раза), степень выраженности конвульсий и общая длительность судорог были значительно меньшими, чем в контроле. Препарат способствовал предупреждению летальности у 85,7 % животных.

Исследуемые соединения в различной степени влияли на развитие судорожного синдрома на хемоконвульсантной модели. Так, предупреждение летальности у 100 % подопытных крыс подобно фенобарбиталу (8), вызывали соединения 1.1; 2.1; 2.3; 3.1; 4.1; 4.2; 4.9; 4.10; 5.3; 5.4; 5.6; 6.1; 6.4; 7.2; 7.3; 7.4. Несколько уступали им ламотриджин и соединение 4.6 (предупреждение летальности составило 86 %). Удлинение латентного периода развития судорог и снижение их интенсивности и длительности в наибольшей мере проявлялось на фоне введения соединений 1.1, 2.1, 3.1, 2.3, 4.10, 5.3, 5.4, 6.4, 7.2 и 7.3. Соединение 4.5, наоборот, выявило проконвульсантную активность, поскольку латентный период коразоловых судорог на фоне его введения сопоставлялся с аналогичным показателем у контрольной группы, а по выраженности судорог даже превышал группу контроля, вызывая 100 % летальность за более короткий (в сравнении с контрольными животными) временной интервал.

Следует отметить, что, по результатам наших исследований, наиболее выраженное противосудорожное действие показали соединения 5.1 и 6.2. Введение крысам этих веществ, как и фенобарбитала (8), в 100 % случаев профилактировало развитие судорожного состояния на протяжении всего периода наблюдения (30 мин). Нами не было выявлено никаких изменений в поведении животных, а также летальности.

Влияние синтезированных соединений, ламотриджина и фенобарбитала на течение судорог, вызванных введением коразола у крыс ($M \pm m$, $n = 7$)

Группы животных	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Длительность латентного периода, мин	Длительность судорог, мин	Летальность, абс. ед. (%)	Характер судорог (баллы)
Коразол (контр.)					5,43 ± 0,50	6,29 ± 0,97	7 (100)	4,6
1.1	Me	4-OMePh	H	—	8,14 ± 0,7*	4,0 ± 0,8	0	1,86
1.2	i-Pr	Me	Me	—	11,7 ± 1,1*	10,6 ± 1,7*	2 (28,6)	3,0
2.1	Ph	Me	H	—	18,0 ± 1,2*	5,57 ± 1,7	0	1,6

2.2	3-FPh	Me	H	—	16,3 ± 3,5*	19,7 ± 2,9*	4 (57,1)	3,71
2.3	4-CF3Ph	Me	H	—	9,43 ± 0,9*	6,57 ± 0,9	0	2,57
3.1	3-FPh	Me	H	—	18,9 ± 1,9*	2,43 ± 0,4*	0	2,3
4.1	Me	pyri-dine	H	4-OMe	7,14 ± 2,6	0,57 ± 0,4*	0	0,57
4.2	Ph	Me	H	3-Me	22,6 ± 3,6*	1,57 ± 0,8*	0	0,5
4.3	Ph	Me	H	4-F	15,7 ± 1,2*	13,9 ± 1,3*	7 (100)	4,14
4.5	4-ClPh	Me	H	4-OMe	4,29±0,4	6,71±0,7	7 (100)	4,57
4.6	4-ClPh	Me	H	3-Cl	17,0 ± 2,2*	6,0 ± 1,8	1 (14,3)	2,6
4.7	3-FPh	Me	H	4-F	8,0 ± 1,3	8,57 ± 0,9	4 (57,1)	4,14
4.8	3-FPh	Me	H	3-Cl	7,43 ± 0,8*	13,9 ± 1,7*	3 (57,1)	3,57
4.9	4-CF3Ph	Me	H	4-OMe	23,3 ± 3,3*	2,57 ± 1,3*	0	0,86
4.10	4-CF3Ph	Me	H	3-Cl	22,3 ± 2,9*	5,43 ± 1,9	0	1,43
4.11	4-CF3Ph	Me	H	4-Cl	8,14 ± 9,8*	9,29 ± 0,9*	3 (42,8)	3,42
5.1	Me	pyri-dine	H	3,4-diOMe	30, 0	0	0	0
5.2	Me	pyri-dine	H	3,5-diCl	9,43 ± 0,8*	11,0 ± 1,2*	2 (28,6)	3,14
5.3	Ph	Me	H	4-OMe	16,0 ± 1,2*	7,57 ± 1,8	0	2,43
5.4	Ph	Me	H	2,4,6-triMe	11,1 ± 1,7*	7,0 ± 1,7	0	1,86
5.5	4-OMe	Me	H	2,5-diMe	7,71 ± 1,2	11,1 ± 1,7*	2 (28,6)	3,57
5.6	4-OMe	Me	H	4-OMe	21,6 ± 3,0*	1,14 ± 0,5*	0	0,9
5.7	4-CF3Ph	Me	H	4-OMe	13,6 ± 2,8*	10,4 ± 2,5	2 (28,6)	2,71
6.1	i-Pr	Me	Me	4-OMe	16,4 ± 4,4*	1,86 ± 0,6*	0	0,86
6.2	i-Pr	Me	Me	3,4-diOMe	30,0	0	0	0
6.3	i-Pr	i-Pr	H	4-Cl	9,71 ± 0,7*	12,6 ± 2,0*	3 (42,8)	3,14
6.4	i-Pr	i-Pr	H	3-Cl, 4-OMe	26,0 ± 1,8*	1,43 ± 0,7*	0	0,43
7.1	4-MePh	Me	H	CONH- 4-MePh	16,4 ± 2,1*	9,1 ± 2,1	7 (100)	4,71
7.2	4-MePh	Me	H	COOH	13,0 ± 1,5*	5,43 ± 0,8	0	2,29
7.3	4-FPh	Me	H	COOH	10,4 ± 0,9*	3,29 ± 0,4*	0	2,0
7.4	4-MePh	Me	H	COOCH3	18,6 ± 3,1*	1,0 ± 0,3*	0	0,9
8					30,0	0	0	0
9					29,4 ± 2,4*	1,86 ± 0,34*	1 (14,3)	2,0

Примечание: знаком * - обозначен статистически достоверный результат относительно контрольных животных

Выводы. Наибольшую противосудорожную активность на модели пентилентетразоловых судорог показали производные

N-арил-3-(2-изопропил-5,6-R-пиримидин-4(3H)-он)ацетамида 6.2

и N-арил-4-(2,6-R-пиримидин-4-тио)ацетамида 5.1, содержащие в своей структуре оксиметильные радикалы. По этой способности данные соединения сопоставлялись с фенobarбиталом (8) и превосходили ламотриджин (9). Интересным фактом является то,

что для соединения 5.1, по данным прогноза PASS, вероятность проявления противосудорожной активности равна нулю. Это позволяет считать перспективными дальнейшие углубленные исследования антиконвульсантной активности этих соединений, а также определение их летальности, терапевтического индекса и других фармакологических свойств.

Список литературы

1. Авакян Г. Н. Экспериментальные и клинические подходы к лечению эпилепсии / Г. Н. Авакян // «Эпилепсия — диагностика, лечение, социальные аспекты» : материалы междунар. конф. / Под ред. Е. И. Гусева, А. Б. Гехт. — М., 2005. — С. 8-9.
2. Болдырева С. Р. Побочные действия антиэпилептических препаратов / С. Р. Болдырева, А. Ю. Ермаков // Клин. эпилептология. — 2009. — № 1. — С. 23-25.
3. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів : методичні рекомендації / Під ред. акад. М. Я. Головенко, проф. Л. О. Громова.— К. : ДФЦ МОЗ України, 2003. — 46 с.
4. Рудакова И. Г. Фармакорезистентная эпилепсия поддается лечению / И. Г. Рудакова, Ю. А. Белова, А. С. Котов // Вестн. эпилептологии. — 2013. — № 1. — С. 3-7.
5. Общеввропейские стандарты помощи при эпилепсии. Сообщение комиссии Международной лиги борьбы с эпилепсией (ILAE), 2004 / M.J. Brodie, P. Wolf, S. Johannessen [et al.] // Междунар. неврол. журн. — 2006. — 4 (8). — Режим доступа: <http://neurology.mif-ua.com/archive/issue-2443/article-2479/>
6. Gerald M. C. Acute and chronic effects of d- and l-amphetamine on seizure susceptibility in mice / M. C. Gerald, W. H. Riffes // Eur. J. Pharmacol. — 1973. — 21 (3) — P. 323-330.
7. ibmc.msk.ru/PASS/PASSASS.html
8. Kwan P. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions / P. Kwan, M. J. Brodie // Expert. Rev. Neurother. — 2006. — Vol. 6, N 3. — P. 397-406.
9. White D. C. Synthesis and anticonvulsant evaluation of some new 2-substituted 3-arylpyrido[2,3-d]pyrimidinones / D. C. White, T. D. Greenwood, A. L. Downey // Bioorg. & Med. Chem. — 2004. — Vol. 12, N 1. — P. 5711-5717.

SCREENING OF ANTICONVULSANT ACTIVITY OF NEW DERIVATIVE OF PYRIMIDIN-4 (3H) — ONES

[A. I. Severina¹](#), [O. O. Skupaya^{1,2}](#), [V. A. Georgiyants¹](#), [N. I. Voloshchuk²](#)

¹National pharmaceutical university (Kharkov, the Ukraine)

²Vinnytsia national medical university n.a. N. I. Pirogov (Vinnytsia, the Ukraine)

Screening of anticonvulsant activity of series of pyrimidine-4 (3H) — ones derivatives was planned on the basis of data from preliminary forecast of biological activity of the synthesized bonds, carried out by means of the computer PASS program. According to results of researches acetamide and N-aril-4-(2,6-R-pyrimidine-4-tio) of acetamide showed the greatest anticonvulsant activity on model of pentylenetetrazol convulsions N-aril-3-(a 2-isopropyl-5,6-R-pyrimidine-4 (3H) — ones) derivatives. These substances were compared on activity with Fenobarbitalum (convulsion development prophylaxis was performed in 100% of cases) and surpassed lamotrigine.

Keywords: derivatives of pyrimidine-4 (3H) — ones, pharmacological screening, anticonvulsant activity.

About authors:

Severina Anna Ivanovna — candidate of pharmaceutical sciences, assistant professor of pharmaceutical chemistry chair at National pharmaceutical university, Kharkov (Ukraine), contact phone: 0572-64-20-81, e-mail: severina.anna@rambler.ru

Skupaya Olga Olegovna — assistant of pharmaceutical chemistry chair at Vinnytsia national medical university n.a. N. I. Pirogov, Vinnytsia (Ukraine), competitor of pharmaceutical chemistry chair at National pharmaceutical university, Kharkov (Ukraine), contact phone: 0432-52-46-99, e-mail: olga.skupa@gmail.com

Georgiyants Victoria Akopovna — doctor of pharmaceutical sciences, professor, head of pharmaceutical chemistry chair at National pharmaceutical university, Kharkov (Ukraine), contact phone: 0572-68-09-17, e-mail: vgeor@ukr.net

Voloshchuk Natalia Ivanovna — doctor of medical sciences, professor of pharmacology of chair at Vinnytsia national medical university n.a. N. I. Pirogov, Vinnytsia (Ukraine), contact phone: 0432-57-49-29, e-mail: natkafarm@yandex.ru

List of the Literature:

1. Avakyan G. N. Experimental and clinical approaches to treatment of epilepsy / G. N. Avakyan // «Epilepsy — diagnostics, treatment, social aspects»: materials of internat. conf. / Under the editorship of E. I. Gusev, A. B. Gekht. — M, 2005. — P. 8-9.
2. Boldyreva S. R. Side effects anti-epileptic preparations / S. R. Boldyrev, A. Y. Ermakov // Clin. Epileptology. — 2009. — № 1. — P. 23-25.
3. Preclinical influence of specific activity of potential anticonvulsants guidance / under the

- edition of acad. M. Y. Golovenko, prof. L. O. Gromov. — K. : DFC MOH of the Ukraine, 2003. — 46 P.
4. Rudakova I. G. Pharmacoresistant epilepsy can be treated / I. G. Rudakov, Belov, A. S. Kotov // Bull. of Epileptology. — 2013. — № 1. — P. 3-7.
 5. The all-European standards of the help at epilepsy. Report of the commission of the International league of fight against an epilepsy (ILAE), 2004 / M. J. Brodie, P. Wolf, S. Johannessen [et al.] // Internat. neurol. journ. — 2006. — 4 (8). — Access mode: <http://neurology.mif-ua.com/archive/issue-2443/article-2479/>
 6. Gerald M. C. Acute and chronic effects of d- and l-amphetamine on seizure susceptibility in mice / M. C. Gerald, W. H. Rife // Eur. J. Pharmacol. — 1973. — 21 (3) — P. 323-330.
 7. ibmc.msk.ru/PASS/PASSASS.html
 8. Kwan P. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions / P. Kwan, M. J. Brodie // Expert. Rev. Neurother. — 2006. — Vol. 6, N 3.- P. 397-406.
 9. White D. C. Synthesis and anticonvulsant evaluation of some new 2-substituted 3-arylpyrido[2,3-d]pyrimidinones / D. C. White, T. D. Greenwood, A. L. Downey // Bioorg. & Med. Chem. — 2004. — Vol. 12, N 1. — P. 5711-5717.