

масляной кислоты, N-п-бутоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляной кислоты, N-п-изобутоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляной кислоты) и 4 этиловых эфиров тех же дипептидов проводили на белых лабораторных мышах обоего пола массой 18-24 г. Использовали модели судорог, вызванных коразолом (пентилентетразол), никотином, ареколином, тиосемикарбазидом и электрическим током [8-12]. О противосудорожной и прогностической транквилизирующей активности соединений судили по предупреждению коразоловых клонических судорог [8], являющихся моделью малых судорожных припадков. Коразоловые клонические судороги получали при подкожном введении коразола в дозе 90 мг/кг. Противосудорожную активность соединений определяли также по предупреждению тонико-экстензорной фазы судорожного припадка максимального электрошока (МЭШ), который является моделью больших судорожных припадков, никотиновых судорог (никотин вводили в/б в дозе 8 мг/кг; центральное N-холинолитическое действие), и ареколинового тремора (ареколин вводили п/к в дозе 15 мг/кг; центральное M-холинолитическое действие). Исследовали также влияние соединений на тиосемикарбазидные (ТСК) судороги (вводили в дозе 18 мг/кг, п/к) для косвенного определения механизма действия соединений. Параметры максимального электрошока – 50 мА, длительность – 0.2 с, частота колебаний – 50 имп/с, критерием оценки является предупреждение тонико-экстензорной фазы судорожного припадка.

N-п-замещенную-β-аланил-γ-аминомасляную кислоту, содержащую пептиды и их этиловые эфиры, вводили внутрибрюшинно в дозах 50-200 мг/кг во взвеси с карбоксиметилцеллюлозой с твин-80 за 45 мин до введения судорожных агентов и нанесения электрического раздражения. Контрольным животным вводили эмульгатор. Каждую дозу соединений по каждому тесту изучали на 5 животных. Аналогом сравнения служил известный противоэпилептический препарат этосуксимид (заронтин), применяющийся при лечении абсансов и миоклонических судорог [1], который вводили мышам в дозах 50-300 мг/кг внутрибрюшинно.

Изучено побочное нейротоксическое (миорелаксантное) действие соединений и этосуксимида в дозах от 50 до 200 мг/кг при внутрибрюшинном введении. Миорелаксацию исследовали по тесту “вращающегося стержня” у мышей [13, 14]. С этой целью мышей помещали на металлический стержень с гофрированным резиновым покрытием, который вращался со скоростью 5 оборотов в минуту. Определяли число животных, не способных удерживаться на нем в течение 2 мин. Определяли также острую суточную токсичность соединений при внутрибрюшинном введении. Для определения 50%-ных эффективных доз (ЭД₅₀, доза, вызывающая противосудорожный эффект у 50% животных), а также 50%-ных нейротоксичных доз (ТД₅₀) использовали статистический метод пробит анализа по Литчфильду и Уилкоксону [15]. Вычисляли защитные индексы (ЗИ) изучаемых соединений – $ЗИ = ТД_{50} / ЭД_{50}$, которые указывают на безопасность применения препаратов, связанных с нейротоксичностью соединений.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что изучаемые соединения и этосуксимид не проявляют антиэлектрошокового действия, не предупреждают никотиновых судорог (что указывает также на отсутствие центрального н-холинолитического действия) и ареколинового тремора (это указывает также на отсутствие центрального м-холинолитического действия). В дозе 200 мг/кг у исследуемых соединений и сравнимого заронтина не выявлено миорелаксантного действия. На модели ТСК судорог животные, получавшие изучаемые соединения и этосуксимид, ведут себя как контрольная группа животных, они не предупреждают судороги и не удлиняют латентный период клонических судорог, что может свидетельствовать об отсутствии ГАМК-ергического механизма действия.

Однако у соединений выявлен антагонизм с коразолом. N-замещенные нейроаминокислоты в дозе 50 мг/кг проявляют выраженное антикоразоловое действие (таблица). В таблице представлено антикоразоловое действие изучаемых соединений, миорелаксация этих веществ и сравнимого противосудорожного препарата этосуксимида.

Как видно из таблицы, ЭД₅₀ изучаемых соединений по антагонизму с коразолом находится в пределах от 32 до 175 мг/кг. По антикоразоловой активности исследуемые N-п-замещенные-β-аланил-ГАМК пептиды уступают их же этиловым эфирам и проявляют почти одинаковое действие по сравнению с этосуксимидом, тогда как этиловые эфиры в несколько раз превосходят сравниваемый аналог. По нейротоксичности все вышеуказанные соединения проявляют одинаковое действие по сравнению с этосуксимидом. По защитному индексу изучаемые производные N-замещенных нейропептидов не уступают этосуксимиду, а их этиловые эфиры намного превосходят функциональный аналог. Фактически этиловые эфиры нейропептидов намного безопаснее по побочному нейротоксичному эффекту, чем этосуксимид.

Выявлена связь между химическим строением исследуемых соединений с их фармакологической активностью. Так, наибольшую противосудорожную активность по антагонизму с коразолом проявляют этиловые эфиры N-замещенных-β-аланил-ГАМК, они же наиболее безопасны по нейротоксичности по сравнению с N-замещенными-β-аланил-ГАМК, независимо от замещенного радикала.

Таким образом, у всех изучаемых N-замещенных-β-аланил-ГАМК дипептидов и их этиловых эфиров выявлено противосудорожное действие по антагонизму с коразолом.

Новые синтезированные производные нейроаминокислот ГАМК и β-аланина представляют научный интерес особенно как противосудорожные вещества, некоторые из которых имеют высокие защитные индексы.

**Противосудорожное действие и нейротоксичность
изученных соединений и этосуксимида**

Соединение (химическое название)	Антагонизм с коразолом, ЭД ₅₀ , мг/кг*	Миорелаксация, ТД ₅₀ , мг/кг*	ЗИ
Этиловый эфир N-п-этоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляной кислоты	44(30.1 ÷ 57.9)	375(300 ÷ 468.75)	8.5
N-п-этоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляная кислота	125 (100 ÷ 156)	425(354÷510)	3.4
Этиловый эфир N-п-пропоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляной кислоты	32(24.8 ÷ 43.8)	500(385÷650)	15.6
N-п-пропоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляная кислота	135(112.5 ÷ 68.7)	525(438 ÷ 630)	3.8
Этиловый эфир N-п-бутоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляной кислоты	45(37.5 ÷ 56.3)	465(372 ÷ 581)	10.3
N-п-бутоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляная кислота	175(113 ÷ 271)	555(444 ÷ 694)	3.17
Этиловый эфир N-п-изобутоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляной кислоты	48(36.0 ÷ 68.0)	505(413.9 ÷ 616.1)	10.5
N-п-изобутоксibenзоил-β-аланил-γ-аминомасляная кислота	130(105 ÷ 158.6)	482(395 ÷ 588)	3.7
Этосуксимид	155(117.5 ÷ 204.5)	520(412.6÷655.2)	3.35

*Доверительные интервалы при уровне вероятности P=0.05.

По сравнению с аналогом этосуксимидам этиловые эфиры N-п-замещенных-β-аланил-ГАМК более активны и менее нейротоксичны. Они перспективны для дальнейших исследований по выявлению противосудорожной активности и создания новых противоэпилептических препаратов.

Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА,
Институт тонкой органической химии им. А. Мнджояна
e.mail: paronikyan.ruzanna@mail.ru

С. А. Казарян, Р. Г. Пароникян, Ж. Р. Алавердян, И. М. Назарян

N-para-замещенные ГАМК и их этиловые эфиры как противосудорожные средства

Исследовалось противосудорожное действие новых 8 соединений – N-п-замещенных-β-аланил-ГАМК и их этиловых эфиров на различных и общепринятых судорожных моделях: коразоловые судороги, максимальный электрошок, никотиновые и тиосемикарбазидные судороги и ареколиновый тремор. Изучено также побочное нейротоксическое (миорелаксантное) действие этих соединений. Сравнение проводили с известным противозепилептическим препаратом этосуксимидом. У всех изучаемых N-замещенных ГАМК и их этиловых эфиров выявлено противосудорожное действие по антагонизму с коразолом. Наиболее выраженную активность проявляют этиловые эфиры N-п-замещенных-β-аланил-ГАМК, которые по активности и широте защитного действия превосходят этосуксимид.

Ս. Հ. Ղազարյան, Ռ. Գ. Պարոնիկյան, Ժ. Ռ. Ալավերդյան, Ի. Մ. Նազարյան

N-պարա-տեղակալված ԳԱԿԹ-ի ածանցյալները և նրանց էթիլային էթերները որպես հակացնցումային միջոցներ

Հետազոտվել է 8 նոր N-պարա-տեղակալված ԳԱԿԹ-ի ածանցյալների և նրանց էթիլային էթերների հակացնցումային ազդեցությունը տարբեր և ընդունված ցնցումային մոդելների վրա՝ կորազոլային ցնցումներ, մաքսիմալ էլեկտրաշոկի թեստ, նիկոտինային և թիոսեմիկարբազիդային ցնցումներ և արեկոլինային տրեմորի մոդել: Հետազոտվել է նաև միացությունների կողմնակի նեյրոտոքսիկ(մկանաթուլացնող) ազդեցությունը: Համեմատությունը կատարվել է հայտնի հակաէպիլեպտիկ դեղամիջոց էտոսուկսիմիդի հետ: Բոլոր ուսումնասիրված N-տեղակալված ԳԱԿԹ-ի ածանցյալները և նրանց էթիլային էթերները ցուցաբերում են հակացնցումային ազդեցություն կորազոլի հետ անտագոնիզմի թեստով: Ամենաբարձր ակտիվություն ցուցաբերում են նշված տեղակալված դիպեպտիդների ածանցյալների էթիլային էթերները, որոնք իրենց հակացնցումային ակտիվությամբ և պաշտպանիչ ազդեցության լայնությամբ գերազանցում են էտոսուկսիմիդին:

S. A. Ghazaryan., R. G. Paronikyan, J. R. Alaverdyan, I. M. Nazaryan

N-p-substituted GABA and Its Ethyl Esters as Anticonvulsants

The anticonvulsant effect of the new 8 compounds, N-p-substituted-β-alanyl-GABA and their ethyl esters, was studied on various and common convulsive models: corazol convulsions, maximal electroshock, nicotine and thiosemicarbazide convulsions and arecolin tremor. The side neurotoxic (muscle relaxant) effects of the compounds has also been studied. A comparison was made with the known antiepileptic drug ethosuximide. All the studied N-substituted GABA peptides and their ethyl esters revealed an anticonvulsant antagonistic effect with corazole. N-p-substituted-β-alanyl-GABA ethyl esters exhibit the most pronounced activity, which are more active than ethosuximide in their activity and breadth of protective action.

Литература

1. Фармакология и клиническое применение нейроаминокислот и их аналогов. Под ред. Г.В. Ковалева. Волгоград. 1985. 295 с.
2. *Robert, M. A. Hirschfeld: Guideline Watch: Practice Guideline for the Treatment of Patients With Bipolar Disorder, 2nd Edition, in American Psychiatric Association Practice Guidelines for the Treatment of Psychiatric Disorders 2004. Copyright ©2011 American p.82.*
3. *Meldrum B. S. In: Excitatory Amino Acids. Eds: Meldrum B. S., Moroni F., Simon R.P. New York. Raven Press. 1991. P. 655-670.*
4. *Харкевич Д. А. Фармакология. М. Геотар-Медия. 2006. 750 с.*
5. *Казарян С. А., Пароникян Р. Г., Агаронян А. С. и др. – Хим. фарм. ж. 2001. Т. 35. № 2. С.7-8.*
6. *Казарян С. А., Пароникян Р. Г., Экмекджян Э. А. и др. – Кровь. 2012. Т. 13. № 1. С. 43-45.*
7. *Պարոնիկյան Ռ. Գ., Ղազարյան Ս. Հ., Ջալալզյանիսյան Բ. Ս. և այլք. – Фарма. 2015. № 11. С. 7-13.*
8. *Vogel H. G., Vogel W. H. In: Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays, ed. H. E. Vogel. Berlin and N. Y. Springer. 2008. P. 569-874.*
9. *Loscher W., Schmidt D. – Epilepsy Res. 1988. № 2. P. 145-181.*
10. *Swinyard E. A. In: Experimental models of Epilepsy. New York. Raven press. 1992. P. 433-458.*
11. *Геворкян К. А., Папаян Г. Л., Чимаритян С. Г., Пароникян Р. Г. – Хим.-фарм. журн. 1987. Т. 21 (2). С. 167-170.*
12. *Drugs used in generalized seizures. Basic and Clinical pharmacology, 9th ed.; Katzung, B. (Ed.); Large Medical Books/McGraw-Hill, 2003.*
13. *Dunham N. W., Miya T. S. – J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed. 1957. V. 46. № 3. P. 208-209.*
14. *Jones B. J., Roberts D. J. – J. Pharm Pharmacol. 1968. V. 20 (4). P. 302–304.*
15. *Litchfield J. T., Wilcoxon F. – J. Pharmacol. exp. Ther. 1949. V. 96. P. 99-113.*