

На правах рукописи

ГАБИДУЛЛИН РИШАТ АНВАРОВИЧ

ПОИСК НОВЫХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ
В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ
1,2,4-ТРИАЗОЛА И ТИЕТАН-1,1-ДИОКСИДА

14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Уфа 2009

Работа выполнена на кафедре фармакологии №1 с курсом клинической фармакологии ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Никитина Ирина Леонидовна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Сперанский Владимир Васильевич

доктор медицинских наук, профессор

Мышкин Владимир Александрович

Ведущая организация: ГОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится "___" декабря 2009 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.006.03 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" по адресу: 450000, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО "Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию "

Автореферат разослан "___" _____ 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Г.Х. Мирсаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Несмотря на бурное развитие психофармакологии, одной из ее основных проблем остается проблема терапии депрессий, что обусловлено неуклонным повышением удельного веса депрессивных расстройств (Olesen J., 2003). Данные официальной статистики свидетельствуют, что от депрессии страдает 4,9–17,9% населения планеты (Rush A.J., 2003). Занимая третье место среди причин обращений к работникам первичной медико-санитарной помощи (Гилбоди С., 2004), по существующим прогнозам к 2020 г. депрессивные расстройства станут второй ведущей причиной нетрудоспособности населения после сердечно-сосудистых заболеваний (Kessler R., 2003; Sobocki P., 2007; Prince M., 2007; Valladares A., 2008). Согласно недавним оценкам, депрессия в глобальном масштабе наносит больший вред здоровью, чем такие хронические заболевания как артрит, бронхиальная астма и сахарный диабет (Moussavi S., 2007).

Значимость терапии депрессии обусловлена не только медицинскими, но и ее социальными аспектами: высокой коморбидностью с соматической патологией, длительным снижением работоспособности больного (Uzun S., 2009), высоким риском суицида, и, как следствие, огромными экономическими потерями, которое оцениваются десятками миллиардов долларов ежегодно. Причем, в структуре затрат, связанных с депрессией, лишь 3% приходится на долю лекарственных препаратов (Марута Н.А., 2009).

Несмотря на то, что первые антидепрессанты были открыты еще в 50-е годы прошлого столетия, появление новых генераций препаратов не привело к ожидаемому повышению эффективности терапии (Gunell D., 2005; Joanna M., 2005; Sanz E., 2005; Khan A., 2003). Однако очевидно, что потребление препаратов этой группы неуклонно растет во всем мире. Так, за первое полугодие 2008 года объем продаж антидепрессантов в России вырос на 100 миллионов рублей по сравнению с аналогичным периодом 2007 года (Левинская А., 2008). По прогнозам, такие темпы прироста будут сохранены как минимум в течение первой декады текущего столетия. Но если до

1970 года наблюдалась тенденция роста регистрации международных непатентованных названий, то последние десятилетия характеризуются расширением рынка в основном за счет регистрации дженериков. Иными словами, наблюдается стагнация в области создания оригинальных антидепрессантов, которая привела к парадоксальной ситуации, когда при значительном росте количества регистрируемых антидепрессантов в клинике используется постоянный набор традиционных широко известных препаратов, а, следовательно, ожидания скорого решения проблемы фармакотерапии депрессии могут быть неоправданны.

Немаловажной проблемой фармакотерапии депрессий является низкая безопасность существующих препаратов. По данным разных авторов частота побочных эффектов достигает 11–30%, хотя считают, что эти цифры преувеличены, поскольку отдельные соматовегетативные сдвиги могут быть следствием самой депрессии (Спивак Л.И., 1988). Тем не менее, возникновение антихолинэргических и сердечно-сосудистых побочных эффектов, а так же прибавка массы тела и половые дисфункции служат причиной преждевременного прерывания фармакотерапии (Кеннеди С., 2007).

Таким образом, проблема поиска лекарственных веществ, которые могут стать базой для создания новых антидепрессантов, является, несомненно, актуальной.

На протяжении ряда лет на кафедре фармацевтической химии БГМУ (г. Уфа) ведутся исследования по синтезу диоксотетанилазолов, среди которых найдены вещества с дезагрегационной, противовоспалительной, иммуотропной, СYP450-модулирующей активностью. Многообещающим с точки зрения поиска психотропных веществ является класс 1,2,4-триазолов, для представителей которого описаны антидепрессивная (Upasani R., 1995), противосудорожная (Bourrain S., 2003), анксиолитическая (Norman M., 1999), нейролептическая (Bradley D., 2007) и анальгетическая активность (Munoz B., 2003), и практически неизученный класс титан-1,1-диоксидов.

Целью настоящего исследования является поиск соединений, обла-

дающих антидепрессивными свойствами, среди новых производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида и обоснование возможности их использования для создания новых лекарственных средств.

Задачи исследования:

1. Провести скрининг соединений – производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида в тестах подвешивания за хвост и принудительного плавания.
2. Изучить связь «структура–антидепрессивная активность» в ряду исследованных производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида и построить математическую модель для прогноза антидепрессивной активности.
3. Провести прогностический поиск веществ с антидепрессивной активностью в ряду новых производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида с использованием сформированной математической модели.
4. Изучить антидепрессивные свойства новых соединений, отобранных по результатам прогноза на математической модели, в тестах подвешивания за хвост и принудительного плавания.
5. Оценить влияние на спонтанную двигательную активность, ориентировочно-исследовательское поведение и уровень эмоционального реагирования животных в тесте «открытое поле» наиболее активных соединений.
6. Определить острую токсичность, среднюю эффективную дозу и коэффициент кумуляции соединений, проявляющих наиболее выраженные антидепрессивные свойства.

Научная новизна. Впервые в результате сравнительного фармакологического анализа оригинальных производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида в тесте принудительного плавания и подвешивания за хвост, показано, что они являются перспективными для поиска новых антидепрессивных средств.

Впервые проведен анализ связи «химическая структура – антидепресс-

сивная активность» в ряду изученных производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида, в результате которого построена математическая модель для экспрессной прогностической оценки антидепрессивной активности, экспериментально подтверждена ее работоспособность.

Впервые с помощью прогностической оценки найдены новые производные 3-замещенного тиепан-1,1-диоксида, обладающие выраженной антидепрессивной активностью – 3-метокситиепан-1,1-диоксид (лабораторный шифр Н14), 3-(2-изопропокси-5-метилфенокси)тиепан-1,1-диоксид (лабораторный шифр Н40) и 3-фенилсульфонилтиепан-1,1-диоксид (лабораторный шифр Н69), экспериментально обоснована необходимость их дальнейшего изучения.

Научно-практическая ценность. Найдены новые низкотоксичные производные тиепан-1,1-диоксида, обладающие выраженной антидепрессивной активностью (Н14, Н69, Н40), которые могут послужить основой для создания новых лекарственных средств с антидепрессивным эффектом.

На основе изученной связи «структура – антидепрессивная активность» в ряду новых производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида построена математическая модель, которая может быть использована для направленного синтеза соединений с антидепрессивными свойствами и внеэкспериментального прогноза антидепрессивной активности в ряду производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида. Установленные закономерности между структурой и антидепрессивной активностью соединений являются базисом для целенаправленного поиска и оптимизации синтеза новых производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида.

Определены оптимальные направления структурной модификации при поиске новых эффективных антидепрессантов – производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида на основе применения комплексов математических моделей оценки антидепрессивной активности и рангового распределения структур относительно «идеальной» антидепрессивной структуры.

Впервые разработан программный продукт «BrainTest», позволяющий

автоматизировать и существенно облегчить процесс регистрации и обработки рутинных психофармакологических тестов, являющихся базовыми при исследовании психотропных средств (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2008610170).

Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе на кафедре фармакологии №1 с курсом клинической фармакологии и кафедре фармакологии №2 ГОУ ВПО БГМУ Росздрава. Полученные данные используются в научно-исследовательской работе кафедры фармацевтической химии ГОУ ВПО БГМУ Росздрава.

Положения, выносимые на защиту:

1. Производные 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида – классы соединений перспективные для поиска новых антидепрессивных средств.
2. 3-замещенные тиетан-1,1-диоксиды Н14 (3-метокситиетан-1,1-диоксид), Н40 (3-(2-изопропокси-5-метилфенокс)тиетан-1,1-диоксид) и Н69 (3-фенилсульфонилтиетан-1,1-диоксид) проявляют выраженные антидепрессивные свойства, сравнимые с флуоксетином, и существенно превосходят его по терапевтическому индексу.
3. Разработана математическая модель для прогноза целевой антидепрессивной активности производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида, экспериментальная апробация которой показала соответствие результатов прогноза эксперименту на уровне 83%.

Апробация работы. Основные положения диссертации представлены на международной конференции по медицинской химии «Drug discovery and selection» (Франция, 2007); на VI всероссийском научном семинаре «Химия и медицина» (Уфа, 2007); на 73-й итоговой Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2008); на XV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2008); на ежегодной конференции «Фармация и общественное здоровье» (Екатеринбург, 2009), на заседании проблемной комиссии «Фармакология и фармация» ГОУ ВПО «Башкирский государ-

ственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» 8 октября 2009 года.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 1 в издании, рекомендованном ВАК Министерства образования и науки РФ, и 1 свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 216 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, 3 глав, отражающих результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, списка литературы и приложения. Включает 17 таблиц и 30 рисунков. Библиографический указатель включает 75 отечественных и 328 зарубежных источников литературы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 2000 белых неинбредных половозрелых мышах, преимущественно самцах, массой 18–20 г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной диете (ГОСТ Р 50258-92) при свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проведены с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1998), а также Правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и ГОСТ Р 51000.4-2008).

В исследовании были использованы 102 оригинальных производных 1,2,4-триазола и тиаган-1,1-диоксида, синтезированных на кафедре фармацевтической химии с курсом аналитической и токсикологической химии Башкирского государственного медицинского университета под руководством д.фарм.н. профессора Ф. А. Халиуллина (Уфа, Россия)¹.

Для исследования антидепрессивной активности использованы тест

¹ Приносим искреннюю благодарность зав. кафедрой фармацевтической химии Башкирского государственного медицинского университета д.фарм.н. профессору Ф. А. Халиуллина, к.фарм.н. Е. Э. Клен, предоставившим новые производные 1,2,4-триазола и тиаган-1,1-диоксида для исследования

подвешивания за хвост (Steru L. et al., 1985) и тест принудительного плавания (Porsolt R.D. et al., 1977). В обоих тестах регистрировали общую продолжительность иммобилизации, а в тесте принудительного плавания дополнительно индекс депрессивности (Щетинин Е.В., 1989). Индекс депрессивности представляет собой соотношение числа коротких (менее 6 с) периодов иммобилизации и количества периодов активного плавания. Влияние на эмоциональную тревожность и двигательную активность изучали в тесте «открытое поле» (Середенин С.Б., 1979; Вальдман А.В., 1984; Атрошенко О.Н., 1999). Индивидуальное поведение животных рассматривали как комплекс дискретных поведенческих актов и поз: «перемещение», «обнюхивание», «вертикальная стойка», «груминг», «движение на месте»; «норка», «стойка с упором»; «сидит». Рассчитывали объем или долю каждого паттерна среди других поведенческих элементов; вероятность перехода из одного состояния во все возможные другие. В качестве интегральных критериев оценивали: нормальность поведения, ориентировочно исследовательскую активность и эмоциональную тревожность.

Анализ связи «структура - антидепрессивная активность» и прогноз активности исследуемых соединений проводили с помощью системы компьютерного моделирования SARD-21 (Тюрина Л.А., 2007).

При проведении фармакологического скрининга психотропной активности, а так же при изучении влияния соединений на эмоциональную тревожность и двигательную активность изучаемые вещества вводили мышам-самцам однократно внутрибрюшинно в дозах 2 мг/кг и 20 мг/кг за 30 минут до проведения тестов, предварительно *ex tempore* суспендировав их в изотоническом растворе хлорида натрия с Твин-80. Животные контрольных групп получали эквивалентные количества 0,9% раствора хлорида натрия с Твин-80.

Острую токсичность изучаемых соединений определяли на мышах обоего пола по методу Litchfield J. и Wilcoxon F. в модификации Прозоровского В.Б. (1962). Соединения *ex tempore* суспендировали на Твин-80 и вводили однократно внутрибрюшинно или внутривентрально. Наблюдение за

животными и учет их гибели проводили в течение 14 суток. Среднюю эффективную дозу определяли при однократном внутрибрюшинном введении в диапазоне доз 0,2-100 мг/кг. ED₅₀ оценивали по показателю иммобилизации в тесте принудительного плавания. Кумуляцию определяли по методу Lim R.K. (1961) на белых неинбредных мышах-самцах. Вещества вводили внутрибрюшинно ежедневно в возрастающих дозах в течение 24 суток. Дозы рассчитывались исходя из среднесмертельных доз, полученных при определении острой токсичности. Суммарная доза за 24 дня составила 8,24 LD₅₀.

Таблица 1 – Базовые структурные формулы изученных на этапе скрининга производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида

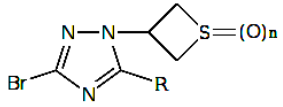
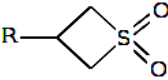
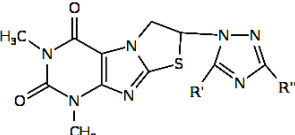
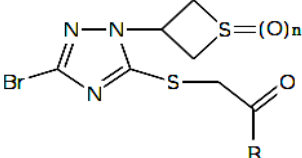
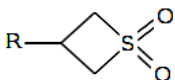
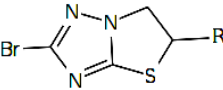
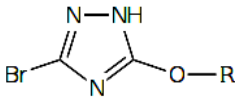
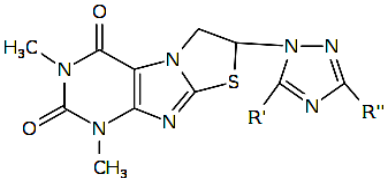
Название класса	Базовая химическая структура	Количество соединений
Производные 2-(1,2,4-триазилил-5-тио)уксусных кислот		36
Производные 3-замещенных тиетан-1,1-диоксидов		8
Производные 7-(1,2,4-триазол-1-ил)метил-1,3-диметил-6,7-дигидро [1,3]тиазоло[2,3-f] пурин-2,4(1H,3H)-дион		3

Таблица 2 – Базовые структурные формулы производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида, использованных для прогноза антидепрессивной активности

Название класса	Базовая химическая структура	Количество соединений
Производные 2-(1,2,4-триазилил-5-тио)уксусных кислот		39
Производные 3-замещенного тиетан-1,1-диоксида		5
Производные 2-бром-5,6-дигидротиазоло[3,2-b]-1,2,4-триазола		8

Производные 5-алкокси-1,2,4-триазола		2
Производные 7-(1,2,4-триазол-1-ил)метил-1,3-диметил-6,7-дигидро [1,3]тиазоло[2,3-f] пурин-2,4(1H,3H)-дион		1

Для анализа экспериментальных данных использовали непараметрические методы статистики, реализованные в среде статистических вычислений R. Для описания вариационных рядов использованы медиана и межквартильный интервал. Однофакторный дисперсионный анализ проводили с помощью H-критерия Краскела-Уоллиса, для множественных сравнений использован Q-критерий Дана. Для всех видов анализа критический уровень значимости для статистических критериев принимался равным 0,05 (Гланц С., 1999).

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный скрининг выявил разнонаправленное модуляторное влияние исследованных производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида на показатели иммобилизации в тестах подвешивания за хвост и принудительного плавания, а так же на индекс депрессивности.

В тесте подвешивания за хвост, хотя бы в одной из использованных доз, снижали длительность иммобилизации соединения с лабораторными шифрами Л210 (2 мг/кг), Л225 (20 мг/кг), Л233 (20 мг/кг), Н30 (2 мг/кг), Н31 (2 мг/кг), Н54 (20 мг/кг), Н64 (20 мг/кг), НГ3 (2 мг/кг), причем, наиболее выраженный статистически значимый эффект зарегистрирован в группах животных, получавших Н30 (2 мг/кг) – показатель уменьшился на 65% по сравнению с контрольными значениями, и НГ3 (2 мг/кг) – на 69% от значений контроля.

Соединения с лабораторными шифрами Б63 (2 и 20 мг/кг), Г29 (2мг/кг), Л196 (2 и 20 мг/кг), Л202 (2 и 20 мг/кг), Л219 (2 и 20 мг/кг), Н1 (2 и 20 мг/кг),

Н2 (2 и 20 мг/кг), Н4 (20 мг/кг), Н46 (20 мг/кг), Н65 (2 мг/кг), Н7 (20 мг/кг) длительность иммобилизации в тесте подвешивания за хвост увеличивали, наиболее сильное действие оказывали Б63 (на 81% по сравнению с контрольной группой) и Л219 (на 60% по сравнению с контрольной группой).

В тесте принудительного плавания под влиянием изученных соединений наиболее часто изменялась длительность иммобилизации – однонаправленный в обеих дозах (2 и 20 мг/кг) эффект вызывали НГ4 (длительность снижалась на 39% и 40% по сравнению с контрольной группой), Г28 (на 33% и 40%) и повышалась под влиянием Б78 (на 57% и 38%), Л243 (на 145% и 107%), Н10 (на 63% и 51%), Н12 (на 71% и 23%), Н4 (на 32% и 30%), Н9 (на 103% и 121%). Хотя бы в одной из доз пролонгировали иммобилизацию: Г209 (2 мг/кг), Л196 (20 мг/кг), Л219 (20 мг/кг), Н18 (2 мг/кг), Н2 (20 мг/кг), Н56 (20 мг/кг), НГ7 (2 мг/кг).

Таким образом, в результате проведенного в тесте принудительного плавания скрининга не было выявлено соединений, вызывающих статистически значимое снижение индекса депрессивности параллельно со снижением длительности иммобилизации. Изученные вещества либо уменьшали длительность иммобилизации, либо индекс депрессивности. В тоже время, ряд соединений характеризовались однонаправленным влиянием на все изученные показатели обоих тестов, то есть вызывали четкую тенденцию к их уменьшению: Н30, Н54.

Среди веществ, оказывающих противоположный по направленности эффект, то есть способствующих увеличению индекса депрессивности и длительности иммобилизации, одновременно влияющих на показатели обоих тестов выявлено не было. Наиболее стабильный однонаправленный эффект вызывали соединения Н7, Н9, Н10, Н12 и Л243, которые увеличивали как минимум два изученных показателя.

Использование методов математического моделирования позволяет существенно сократить человеческие, финансовые и временные ресурсы и достичь предварительных результатов без применения большого количества ла-

бораторных животных. Поэтому на следующем этапе нами была изучена связь «структура-активность» в ряду исследованных в эксперименте производных 1,2,4-триазола и тиазан-1,1-диоксида с помощью системы SARD-21².

По результатам скрининга были отобраны вещества, проявившие свойства антидепрессантов и продепрессивных веществ, на основании чего сформированы два оппозитных класса: «антидепрессанты» и «депрессогены», которые необходимы для формирования обучающей выборки SARD-21. В качестве критерия отнесения вещества в группу «антидепрессантов» было принято существенное снижение относительно контроля как минимум одного из показателей поведенческих тестов: продолжительности иммобилизации в тесте принудительного плавания или подвешивания за хвост, либо индекса депрессивности. Соответственно, при существенном повышении этих показателей в сравнении с контрольной группой соединения классифицировались как «депрессогены».

Создание моделей связи «структура-активность» шло в двух основных направлениях: массив обучения моделей формировался либо только из производных 1,2,4-триазола и тиазан-1,1-диоксида, изученных на этапе скрининга, либо дополнительно включал известные антидепрессанты. Экспериментальные модели, построенные на базе SARD-21 (более 20), различались как по степени распознавания тестируемых структур, так и по прогностической активности. Принадлежность структур массива обучения к альтернативным классам определялась на основании двух алгоритмов, реализованных в SADR-21: «геометрия» и «голосование».

Среди 20 построенных были выбраны 2 модели, характеризующиеся наиболее высоким процентом распознавания структур массива обучения по обоим алгоритмам (табл. 3), что является необходимым условием работоспособности моделей. Модель М-2 характеризовалась высоким процентом распознавания структур обучающей выборки, но была неэффективна при про-

² Все исследования связи «структура-активность» были выполнены под руководством д. х. н. профессора Л. А. Тюриной (Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений, г. Уфа)

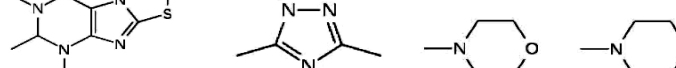
гнозе серии соединений с известной антидепрессивной активностью и производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида, изученных в эксперименте. Модель М-1 характеризовалась как высоким процентом распознавания структур обучения, так и хорошим качеством прогноза (табл. 3). В обучающий массив этой модели вошли изученные на этапе скрининга соединения и три антидепрессанта: тразодон, пароксетин и флуоксетин.

Для выявления параметров, влияющих на проявление антидепрессивной активности, сгенерированы и оценены субструктурные дескрипторы. Так, среди циклических фрагментов (рис. 1) дигидротиазоло[2,3-f]пурин с заместителями в положениях 1, 2, 3, 6 пуринового цикла (I) и положении 2' дигидротиазольного цикла оказывает слабое положительное влияние на антидепрессивную активность как в качестве самостоятельного фрагмента, так и в сочетании с метильными радикалами, $(-CH_2-)_2$ при гетероатоме и с атомом азота. Остальные азотсодержащие циклы вносят отрицательный вклад, причем, с уменьшением количества гетероатомов в ряду II, III, IV уменьшается и абсолютное значение информативности фрагментов.

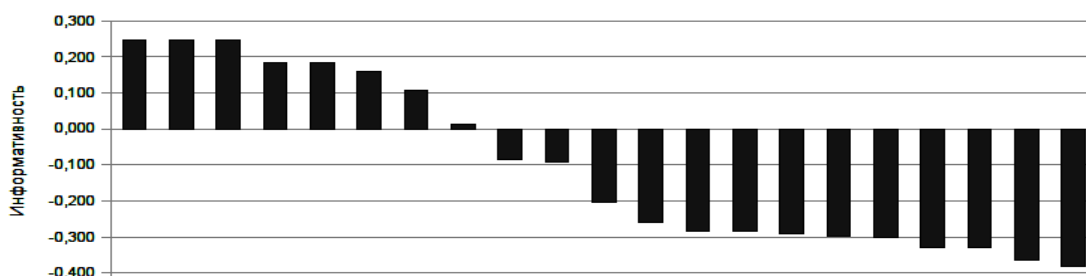
Таблица 3 – Характеристики моделей распознавания антидепрессантов

Параметры	Массив обучения		Прогнозируемая серия	
	М-1	М-2	М-1	М-2
Количество соединений				
антидепрессанты	18	31	7	7
депрессоры	19	19	5	5
всего	37	50	12	12
Число признаков в РНП	15	17	—	
Распознавание по алгоритму «голосование», %				
антидепрессанты	72	72	100	100
депрессоры	89	100	60	0
всего	81	86	80	50
Распознавание по алгоритму «геометрия», %				
антидепрессанты	72	78	100	100
депрессоры	95	100	80	0
всего	83	89	90	50

Тиетановый цикл с заместителями при атоме серы (V) имеет положительный характер влияния на исследуемую активность соединений, тогда как отсутствие заместителей на атоме серы (VI) заметно смещает оценку инфор-

CC(C)NCC(C)C

Влияние ациклических азотсодержащих функциональных групп в соче-



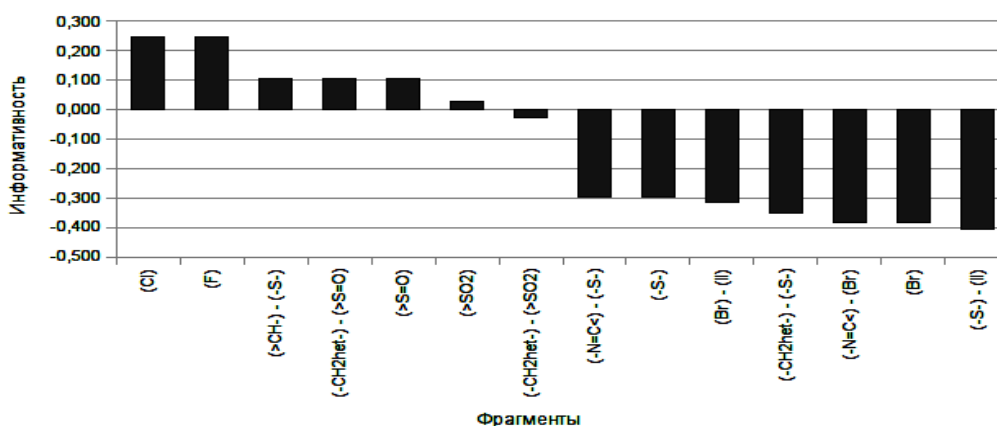


Рис. 3. Информативность галоген- и серосодержащих фрагментов.

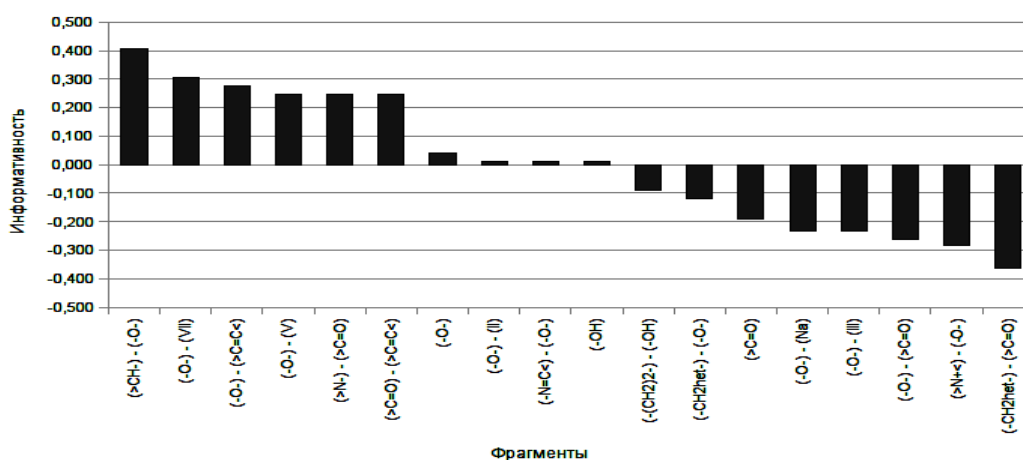


Рис. 4. Информативность кислородсодержащих фрагментов.

На базе SARD-21 с помощью созданной модели М-1 «структура–антидепрессивная активность» был проведен прогноз целевой активности у новых производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида, которые не были исследованы в поведенческих скрининговых тестах и, соответственно, не входили в обучающий массив построенных моделей. Для прогноза антидепрессивной активности были представлены 55 новых соединений, которые не были исследованы на этапе скрининга (табл. 2). В результате прогноза на модели М-1 по алгоритму «геометрия» были отобраны 12 соединений с потенциальной антидепрессивной активностью. Для верификации данных прогноза все 12 производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида были исследованы в эксперименте на мышах-самцах с помощью поведенческих тестов подвешивания за хвост и принудительного плавания.

За «критерий» подтверждения антидепрессивной активности было принято статистически значимое снижение хотя бы одного из трех показателей: длительности иммобилизации в одном из двух тестов или индекса депрессивности. Из 12 изученных соединений наиболее выраженный статистически значимый эффект оказали производные 3-замещенного тиадан-1,1-диоксида: 3-метокситиадан-1,1-диоксид (лабораторный шифр Н14), 3-(2-изопропокси-5-метилфенокси)тиадан-1,1-диоксид (лабораторный шифр Н40) и 3-фенилсульфонилтиадан-1,1-диоксид (лабораторный шифр Н69), которые уменьшали длительность иммобилизации и индекс депрессивности в тесте плавания. Так, Н14 снижал индекс депрессивности до 40% (2 мг/кг) и 51% (20 мг/кг) от значений контрольной группы, а длительность иммобилизации до 37% (2 мг/кг). Н40 уменьшал независимо от дозы и индекс депрессивности, и время иммобилизации, в дозе 2 мг/кг больше влияя на иммобилизацию (38% от контроля), а в дозе 20 мг/кг – на индекс депрессивности (64% от контроля). Н69 уменьшал время иммобилизации в тесте подвешивания за хвост до 79% (20 мг/кг), а в тесте плавания его эффект был более выражен в дозе 2 мг/кг – иммобилизация снижалась до 46% от контроля. Индекс депрессивности под действием этого соединения снижался до 59% в дозе 2 мг/кг и до 55% в дозе 20 мг/кг.

Производные 2-(1,2,4-тризолил-5-тио)уксусных кислот статистически значимо уменьшали только ИД. Лишь НГ9 значимо уменьшал и длительность иммобилизации (рис. 5). Таким образом, в эксперименте на мышах-самцах была подтверждена активность 10 соединений из 12, спрогнозированных на модели М-1, что составляет 83%.

На следующем этапе исследования были проведены повторные серии экспериментов для отбора наиболее перспективных соединений с целью их дальнейшего изучения. В тестах принудительного плавания и подвешивания за хвост были изучены Н54, Н30 и НГ3, выявленные на этапе скрининга, и Н14, Н69, Н40, НГ9, активность которых было спрогнозировано на модели М-1 и подтверждена в эксперименте. Соединения вводили в дозах 2 мг/кг и

20 мг/кг, в качестве препарата сравнения был использован флуоксетин («Apotex Inc.», Канада) в дозе 10 мг/кг (рис. 6).

По результатам экспериментов наиболее стабильный статистически значимый эффект оказывали соединения с лабораторными шифрами Н14, Н40 и Н69, относящиеся к классу тиепан-1,1-диоксидов. Для всех соединений характерно не только снижение расчетного индекса депрессивности, но и длительности иммобилизации в тесте принудительного плавания, тогда как флуоксетин уменьшал только длительность иммобилизации.

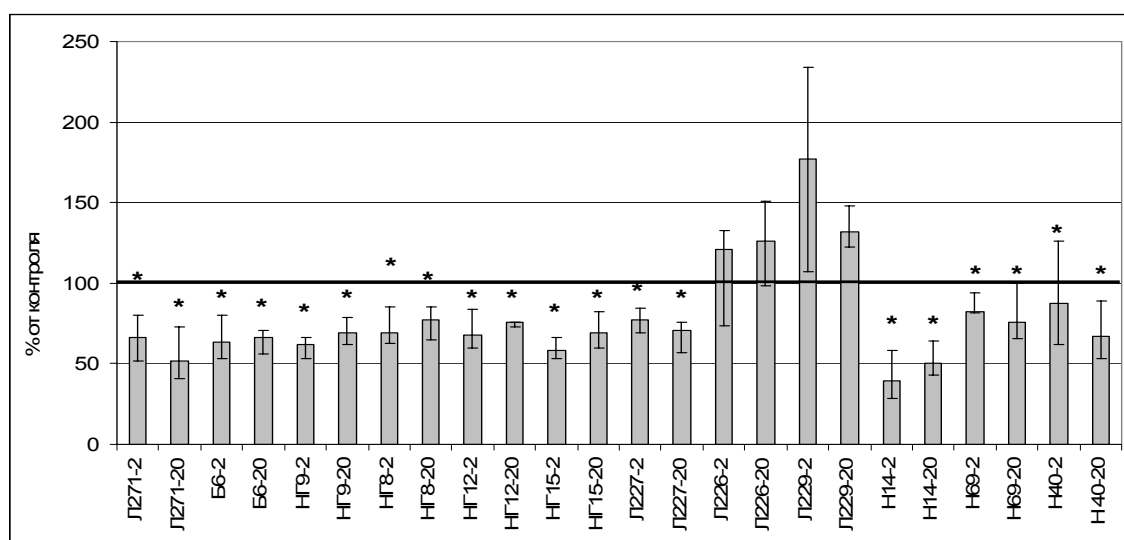


Рис. 5. Влияние новых производных 1,2,4-триазола и тиепан-1,1-диоксида, выявленных в результате прогноза целевой активности на модели М-1, на индекс депрессивности. На графиках представлены медиана и межквартильный интервал. * – $p < 0,05$ для Q-критерия Дана, — контроль.

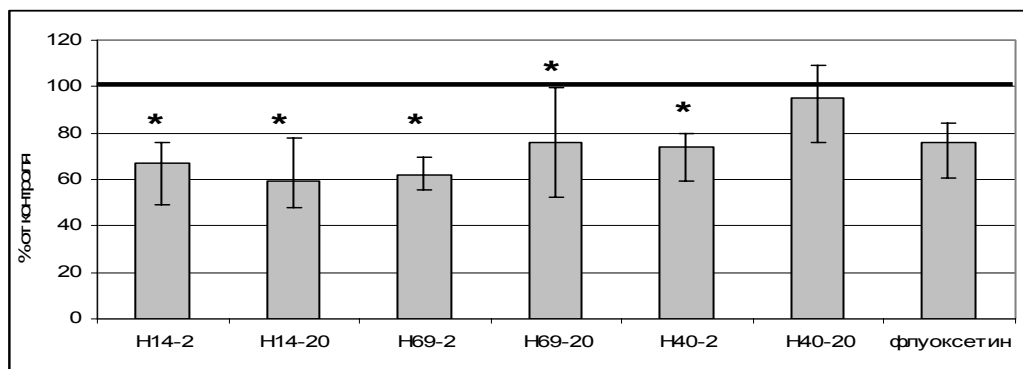


Рис. 6. Влияние наиболее перспективных производных и тиепан-1,1-диоксида и флуоксетина на индекс депрессивности. * – $p < 0,05$ для Q-критерия Дана, — контроль.

Продолжительность иммобилизации в тестах принудительного плавания и подвешивания за хвост может изменяться не только под влиянием антидепрессивного эффекта соединений, но и при наличии у них психостимулирующей или психоседативной активности.

С целью выявления возможных сопутствующих психоседативного и психостимулирующего эффектов все 12 соединений, отобранных по результатам компьютерного прогноза, были исследованы в тесте «открытое поле» (рис. 7). Обнаружено, что ни одно из изученных веществ в использованных дозах статистически значимо не изменяло количество поведенческих элементов «обнюхивание», «перемещение», «норка», а, следовательно, не влияло на ориентировочно-исследовательскую активность. Нормальность поведения и эмоциональная тревожность мышей так же сохранялись на уровне контроля.

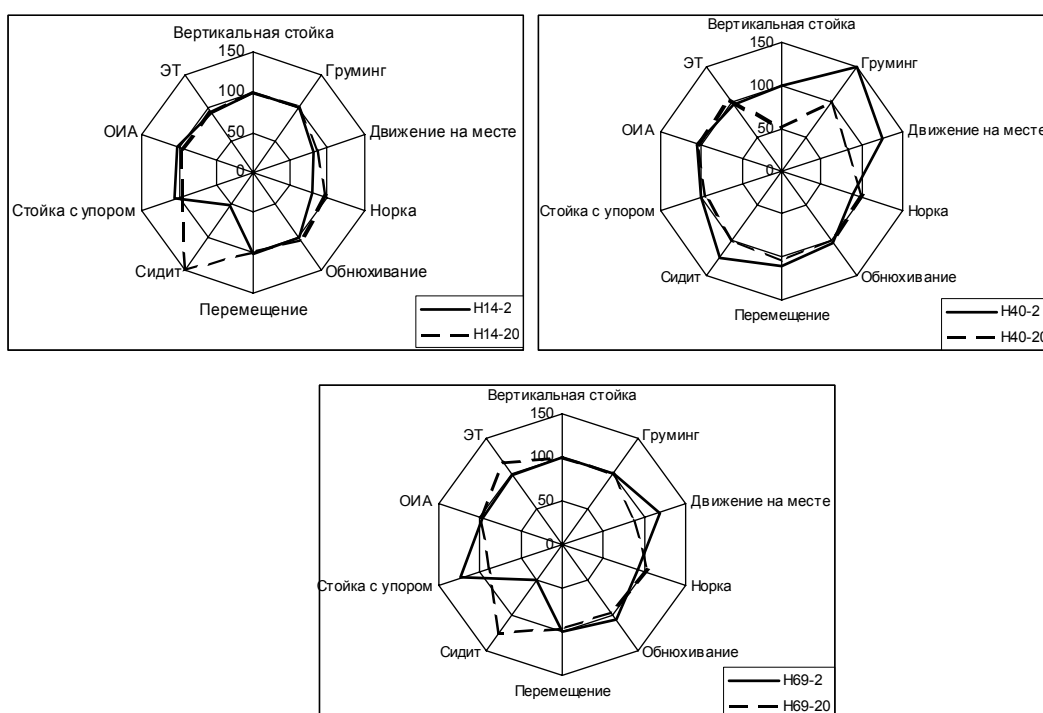


Рис. 7. Влияние N14, N40 и N69 в дозах 2 мг/кг и 20 мг/кг на индивидуальное поведение мышей в тесте «открытое поле». ЭТ – эмоциональная тревожность, ОИА – ориентировочно-исследовательская активность. Данные приведены в процентах от значений контроля.

Острая токсичность, коэффициент кумуляции и средняя эффективная доза были определены у наиболее активных производных тиетан-1,1-

диоксида (Н14, Н40, Н69). Для всех изученных веществ путь введения не оказывал существенного влияния на показатели острой токсичности. При внутрижелудочном введении независимо от пола животных они отнесены нами к классу умеренно опасных соединений, в то время как при внутрибрюшинном – к IV классу малотоксичных за исключением Н40, который по классификации К.К. Сидорова (1977) является практически нетоксичным соединением.

По величине ED₅₀ Н14, Н40 и Н69 сравнимы с флуоксетином, однако, вследствие более низкой токсичности они характеризуются высоким терапевтическим индексом, который превосходит флуоксетин в 9,3, 1,6 и 13,5 раз соответственно (табл. 4).

Таблица 4 – Показатели острой токсичности, средние эффективные дозы и терапевтический индекс новых производных тиепан-1,1-диоксида, проявляющих выраженные антидепрессивные свойства

Соединение	LD50, мг/кг	ED50, мг/кг	Терапевтический индекс
Н14	504	6	84
Н69	148	10	15
Н40	1100	9	122
флуоксетин	87	10	9

Поскольку терапия антидепрессантами проводится в течение длительного периода времени, то изучение способности производных тиепан-1,1-диоксида к кумуляции является крайне необходимым, кроме того, результаты этих исследований важны для дальнейшего изучения хронической токсичности веществ. В течение 24 дней эксперимента, когда гибели мышей не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии кумуляции у данных соединений.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов найдены новые низкотоксичные производные 3-замещенного тиепан-1,1-диоксида Н14 (3-метокситиепан-1,1-диоксид), Н40 (3-(2-изопропокси-5-метилфенокси)тиепан-1,1-диоксид) и Н69 (3-фенилсульфонилтиепан-1,1-диоксид), оказывающие при однократном введении выраженный антидепрессивный

эффект сравнимый с флуоксетином, которые перспективны для дальнейшего изучения их спектра психотропной активности и механизмов антидепрессивного эффекта.

Выводы

1. 1,2,4-Триазолы и тиетан-1,1-диоксиды – классы соединений с разнонаправленным влиянием на эмоциональную сферу, среди которых наиболее перспективными для поиска новых антидепрессантов являются производные 2-(1,2,4-триазилил-5-тио)уксусных кислот и 3-замещенных тиетан-1,1-диоксидов.
2. 3-Замещенные тиетан-1,1-диоксиды Н14 (3-метокситиетан-1,1-диоксид), Н40 (3-(2-изопропокси-5-метилфенокси)тиетан-1,1-диоксид) и Н69 (3-фенилсульфонилтиетан-1,1-диоксид) при однократном введении проявляют выраженные антидепрессивные свойства, сравнимые с флуоксетином, и существенно превосходят его по терапевтическому индексу.
3. Соединения Н14 (3-метокситиетан-1,1-диоксид), Н40 (3-(2-изопропокси-5-метилфенокси)тиетан-1,1-диоксид) и Н69 (3-фенилсульфонилтиетан-1,1-диоксид) при однократном введении не изменяют ориентировочно-исследовательскую, двигательную активность и эмоциональную тревожность у интактных мышей в тесте «открытое поле».
4. Соединения Н14, Н69 и Н40 при внутрибрюшинном введении мышам относятся к IV классу опасности, а при внутрижелудочном введении – к категории умеренно опасных веществ независимо от пола животных, за исключением Н40, который при внутрибрюшинном введении мышам-самцам относится к V классу практически нетоксичных соединений. Н14, Н40 и Н69 не вызывают кумуляции.
5. Методами компьютерной химии и распознавания образов построена модель связи «структура–антидепрессивная активность», позволяющая с высокой вероятностью прогнозировать появление целевой активности в ряду производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида. Для производных 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида, проявляющих антидепрессивные свойства, характерно наличие в структуре тиетандиоксид-

ного цикла, паразамещенного фенила, тиометильной и/или алкоксигрупп.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Найденные производные 3-замещенного тиетан-1,1-диоксида, обладающие выраженной антидепрессивной активностью (Н14, Н69, Н40), могут послужить основой для создания новых лекарственных средств с антидепрессивным эффектом.
2. Созданная математическая модель связи «структура - антидепрессивная активность» может быть использована для направленного синтеза соединений с антидепрессивными свойствами и внеэкспериментального прогноза антидепрессивной активности в ряду 1,2,4-триазола и тиетан-1,1-диоксида.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ

1. Автоматизация поведенческих экспериментов с помощью компьютерной программы «AutoTST». / Р.А. Габидуллин, О.А. Иванова, И.Л. Никитина, Е.К. Алехин // **Сибирский медицинский журнал**. – Томск, 2009. – №1. – С. 57-58.
2. Studies on the synthesis and antidepressant activity of a series of novel 1,2,4-triazole compounds. / E.E. Klen, I.L. Nikitina, F.A. Khaliullin, N.N. Makarova, O.A. Ivanova, R.A. Gabidullin // Book of abstracts of the international conference of medicinal chemistry “**Drug discovery and selection**”. Lille, France, 2007.-P.71.
3. **Программа для ЭВМ «Braintest**». / Р.А. Габидуллин, О.А. Иванова, И.Л. Никитина, Е.К. Алехин // Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2008610170 от 9.01.2008.
4. Антидепрессивная активность производных тиетан-1,1-диоксида. / О.А. Иванова, Р.А. Габидуллин, И.Л. Никитина, Е.Э. Клен, Н.Н. Макарова, Е.К. Алехин, Ф.А. Халиуллин // Химия и медицина: Тезисы докладов VI Всероссийского научного семинара с Молодежной научной школой. – Уфа: Гилем, 2007. - С.159-160.
5. Иванова, О.А. Изучение антидепрессивной активности новых производных триазола. / О.А. Иванова, Р.А. Габидуллин, С.И. Семенова // Вопросы теоретической и практической медицины. Материалы 73-й итоговой Республиканской научной конференции студентов и молодых

- ученых. Том I. - Уфа: изд-во ГОУ ВПО «БГМУ Росздрава». - 2008. - С.156-157.
6. Габидуллин, Р.А. Антидепрессивная активность новых триазолов. / Р.А. Габидуллин, О.А. Иванова // Вестник РГМУ. Периодический медицинский журнал. – 2008. - № 2. С. 290-291.
 7. Изучение антидепрессивной активности производных тиетан-1,1-диоксида. / О.А. Иванова, Р.А. Габидуллин, И.Л. Никитина, Е.Э. Клен, Н.Н. Макарова, Е.К. Алехин, Ф.А. Халиуллин // XV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов конгресса. - Москва, 2008. – С. 44.
 8. Поиск биологически активных веществ среди производных 1,2,4-триазола, содержащих тиетановый цикл в различных степенях окисления серы. / Е.Э. Клен, Н.Н. Макарова, И.Л. Никитина, О.А. Иванова, Р.А. Габидуллин, Л.Ф. Багаутдинова, Е.К. Алехин, Ф.А. Халиуллин // XV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов конгресса. - Москва, 2008. – С. 55.
 9. Синтез и антидепрессивная активность эфиров 2-(3-бром-1,2,4-триазолил-5-тио)уксусных кислот, содержащих тиетановый цикл. / Е.Э. Клен, И.Л. Никитина, О.А. Иванова, Р.А. Габидуллин, Л.Ф. Агзамова, Е.К. Алехин, Ф.А. Халиуллин // Башкирский химический журнал. – 2008. - №4. - С.21-22.
 10. Синтез и антидепрессивная активность тиетансодержащих 5-арилокси-3-бром-1,2,4-триазолов. / Е.Э. Клен, Н.Н. Макарова, И.Л. Никитина, О.А. Иванова, Р.А. Габидуллин, Е.К. Алехин, Ф.А. Халиуллин // Башкирский химический журнал. – 2008. - №4. - С.23-24.
 11. Антидепрессивный эффект производных тиетан-1,1-диоксида в тесте принудительного плавания. / О.А. Иванова, Р.А. Габидуллин, И.Л. Никитина, Е.Э. Клен, Н.Н. Макарова, Е.К. Алехин, Ф.А. Халиуллин // Материалы ежегодной конференции «Фармация и общественное здоровье»: сборник статей. - 2009. - С.104-106.
 12. Синтез и прогноз антидепрессивной активности 5-замещенных 2-бром-5,6-дигидротиазолов[3,2-В]-1,2,4-триазолов. / Е.Э. Клен, И.Л. Никитина, Р.А. Габидуллин, О.А. Иванова, Е.К. Алехин, Ф.А. Халиуллин // Материалы ежегодной конференции «Фармация и общественное здоровье»: сборник статей. 2009. С.103-104.