

## СРАВНЕНИЕ НЕЙРОПСИХОТРОПНЫХ СВОЙСТВ (*R*)-ИЗОМЕРА И РАЦЕМИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ТОЛИБУТА

*Н.С. Ковалев<sup>1</sup>, Д.А. Бакулин<sup>2</sup>, Д.В. Куркин<sup>3</sup>, В.Э. Пустынников<sup>1</sup>, А.Н. Резников<sup>2</sup>, Ю.Н. Климочкин<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»

Минздрава России, кафедра фармакологии и фармации ИНМФО;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», кафедра органической химии;

<sup>3</sup>Научный центр инновационных лекарственных средств

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

Использование биологически активных энантиомеров вместо рацемических форм в настоящее время является перспективным подходом к улучшению свойств известных лекарственных препаратов. У таких производных ГАМК, как фенибут и баклофен, фармакологическую активность обуславливает (*R*)-изомер. Перспективность возможного клинического применения толибута ограничена узким спектром терапевтического действия. Одним из способов его расширения может быть подход, заключающийся в выделении и дальнейшем использовании только активного энантиомера. Была произведена оценка седативного, анксиолитического, ноотропного, противогипоксического действия, определена токсическая доза (*R*)-изомера и рацемата толибута. Выполненное исследование показало, что (*R*)-изомер толибута обладает более выраженным миорелаксирующим, противогипоксическим действием, проявляет менее выраженную анксиолитическую активность и меньшую токсичность по сравнению с рацематом.

**Ключевые слова:** ГАМК, толибут, энантиомеры, анксиолитическая активность, крысы.

DOI 10.19163/1994-9480-2021-2(78)-93-97

## COMPARISON OF THE NEURO PSYCHOTROPIC PROPERTIES OF THE (*R*)-ISOMER AND THE RACEMIC FORM OF THE TOLIBUT

*N.S. Kovalev<sup>1</sup>, D.A. Bakulin<sup>2</sup>, D.V. Kurkin<sup>3</sup>, V.E. Pustynnikov<sup>1</sup>, A.N. Reznikov<sup>2</sup>, Yu.N. Klimochkin<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,

Department of pharmacology and pharmacy;

<sup>2</sup>FSBEI HE «Samara State Technical University», Department of organic chemistry;

<sup>3</sup>Scientific center for innovative medicines FSBEI HE «Volgograd State Medical University»

of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

The use of biologically active enantiomers instead of racemic forms is currently a promising approach to improving the properties of known drugs. In such derivatives of GABA as phenibut and baclofen, the pharmacological activity is determined by the (*R*)-isomer. The potential for the possible clinical use of tolubit is limited by a narrow spectrum of therapeutic action. One of the ways to expand it may be the approach of isolating and studying the active enantiomer. The sedative, anxiolytic, nootropic, antihypoxic effects, as well as the toxicity of the (*R*)-isomer and racemate of tolubit were evaluated. The performed study showed that the (*R*)-isomer of tolubit has a more pronounced muscle relaxant, antihypoxic effect, exhibits less pronounced anxiolytic activity and less toxicity compared to racemate.

**Key words:** GABA, tolubit, enantiomers, anxiolytic activity, rats.

Оптические изомеры все чаще привлекают пристальное внимание, так как изменение пространственного расположения одних и тех же групп в биологически активном веществе может привести к усилению фармакологической активности и уменьшению эффективной дозы [6]. Толибут по результатам доклинических исследований обладает достаточно широким спектром фармакологической активности: анальгетической, транквилизирующей [8], нейропротекторной [9], седативной и миорелаксирующей. По ряду фармакологических эффектов толибут многократно превосходит фенибут, однако последний оказался менее токсичным и получил дальнейшее развитие [3].

Изучение фенибута и баклофена как *in vitro*, так и *in vivo*, доказало значительно большую активность (*R*)-изомера [7].

Однако в литературе отсутствует информация о нейропсихотропных свойствах его индивидуальных энантиомеров, что и послужило предметом нашего исследования.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнить спектр и выраженность нейропсихотропного действия (*R*)-изомера толибута и его рацемической формы.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование проведено на 62 крысах-самцах линии Wistar, массой 200–230 г, в возрасте 6 мес. и 50 мышах-самцах линии СВА, массой 20–25 г, в возрасте 5 мес. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом (Региональный исследовательский этический комитет Волгоградской области) № 2010-2019 02 апреля 2019 г.

С целью сравнения фармакологических свойств толибута и его (*R*)-изомера для изучения зависимости «доза-эффект» они использовались в диапазоне доз от 2,5 до 20 мг/кг. Было сформировано 9 групп, которым однократно, в/б за 60 мин до выполнения тестов вводили: контрольной группе физиологический раствор, опытным – (*R*)-изомер толибута и *R,S*-толибут в дозах 2,5, 5, 10 и 20 мг/кг.

Влияние исследуемых соединений на психоэмоциональное состояние оценивали в тестах: открытое поле (ОП), приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) и конфликтная ситуация «вариант Vogel», когнитивную функцию в тестах формирования условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) и тесте экстраполяционного избегания (ТЭИ) [1, 2]. Изучение острой токсичности осуществлялось на мышах, в/б.

Соединения для исследования были получены по методикам, представленным в предыдущей работе [4] и предоставлены сотрудниками кафедры органической химии в ФГБОУ ВО «СамГТУ», г. Самара.

Статистическая обработка данных проводилась в MS Excel 2013 и Prism 6, сравнение осуществлялось по критериям Шапиро – Уилка, Краскела – Уоллиса и Дана.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение рацемического толибута в дозе 2,5 мг/кг и (*R*)-толибута в дозе 2,5 и 5 мг/кг не оказывало влияние на поведение животных в тесте ОП и ПКЛ. Группы, получающие *R,S*-толибут в дозе 5 мг/кг, пересекали больше квадратов и имели высокий показатель ориентировочно-исследовательской активности в тесте ОП по сравнению с контрольной группой. Дальнейшее увеличение дозы до 10 мг/кг не приводило к увеличению двигательной активности. У животных, получавших (*R*)-толибут в дозе 10 мг/кг, наблюдалось выраженное снижение двигательной особенно исследовательской активности ( $p < 0,05$ ). Дальнейшее увеличение вводимой дозы до 20 мг/кг как для *R,S*-толибута, так и его (*R*)-изомера приводило уже к сопоставимому снижению показателей двигательной активности ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

В тесте ПКЛ, в группах, получавших рацемический толибут в исследуемых дозах (5, 10 и 20 мг/кг), время, проведенное в открытых рукавах установки, было значимо выше, в сравнении с контрольной группой. При этом введение (*R*)-толибута только в дозах 5 и 10 мг/кг приводило к значимому повышению данного показателя (рис. 2).

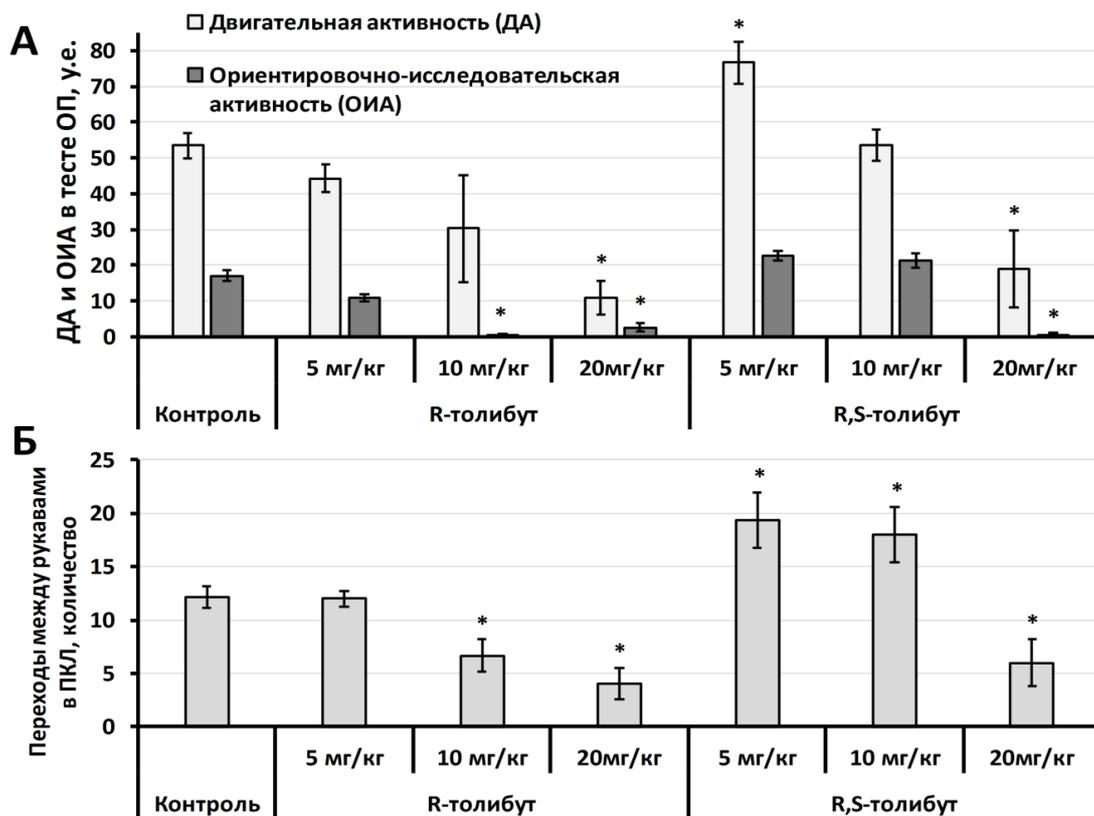
Для теста «Vogel» были выбраны дозы 5 и 10 мг/кг, поскольку выраженный седативный эффект, проявляющийся у соединений в дозе 20 мг/кг, мог оказать влияние на поведение животных. В тесте «Vogel» животные, получившие *R,S*-толибут в дозах 5 и 10 мг/кг, а также (*R*)-толибут в дозе 10 мг/кг совершали большее количество наказуемых взятий воды в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

В тесте УРПИ у всех животных, получавших перед обучением *R,S*-толибут во всем диапазоне доз, при воспроизведении навыка через 24 часа и на 7-е сутки была отмечена сохранность памятного следа. На этапе обучения животные больше времени проводили в светлой камере установки ( $p < 0,05$ ). Во всех группах, получавших (*R*)-изомер толибута в разных дозах, наблюдалось угасание памятного следа при повторном воспроизведении через 24 часа или через 7 суток.

При проведении ТЭИ было отмечено, что животные, получавшие *R,S*-толибут в дозах 5 и 10 мг/кг, значимо быстрее решали задачу при последующих воспроизведениях, и только в группе, которым вводили 20 мг/кг, животные дольше воспроизводили выученный навык. У животных, получавших (*R*)-толибут в дозах 5 и 10 мг/кг, наблюдалась тенденция к снижению времени решения экстраполяционной задачи при воспроизведении навыка через 24 часа и 7 суток. При этом, как и у *R,S*-толибута, животные, получавшие 20 мг/кг, спустя 24 часа дольше воспроизводили навык подныривания, чем при обучении.

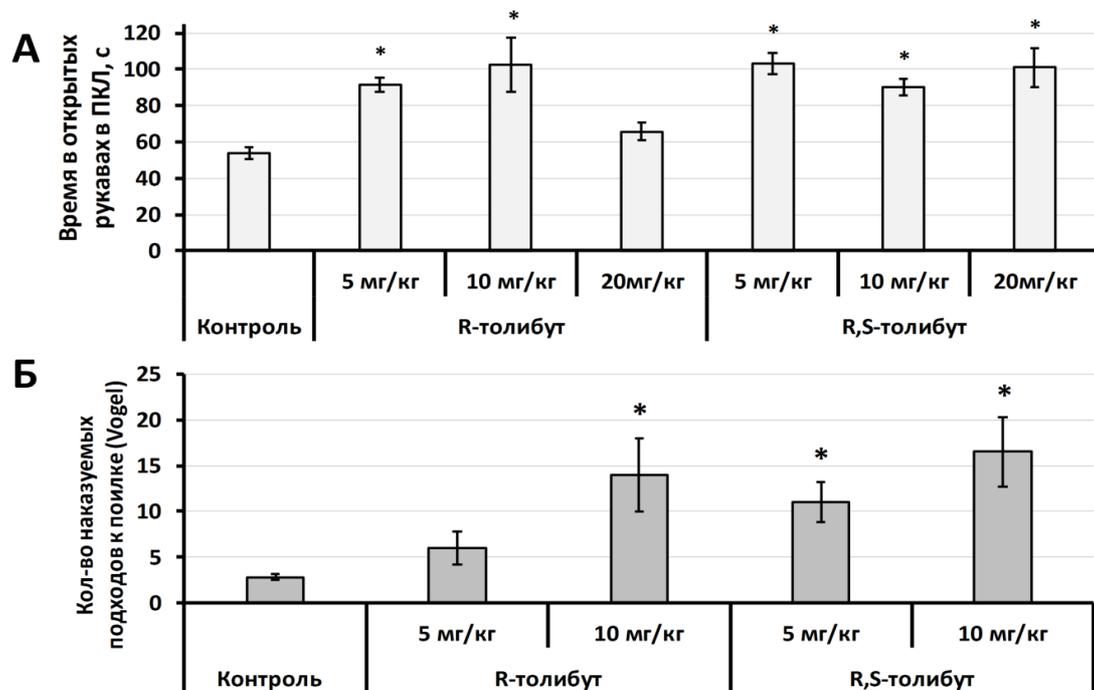
В группах животных, получавших (*R*)-изомер и *R,S* форму толибута, в дозе 2,5 мг/кг, во всех поведенческих тестах не было отмечено статистически достоверных различий в сравнении с контролем, что послужило поводом исключения данной дозы из дальнейшего исследования (см. табл.).

Асимметрический синтез и дальнейшие сравнительные исследования (*R*)-изомера толибута и его рацемата на лабораторных животных позволили определить превосходящую рацемат седативную активность и в 3 раза меньшую токсичность, составляющую у (*R*)-изомера 756 мг/кг к 244 мг/кг у рацемической формы.



\* Различия достоверны относительно группы контроля при  $p < 0,05$ .

Рис. 1. А – показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в тесте ОП; Б – показатель двигательной активности в тесте ПКЛ



\* Различия достоверны относительно группы контроля при  $p < 0,05$ .

Рис. 2. А – продолжительность нахождения в открытых рукавах в тесте ПКЛ; Б – количество наказуемых подходов к поилке в тесте конфликтной ситуации «вариант Vogel»

Латентный период захода в темный отсек в тесте УРПИ.

Латентный период подныривания в тесте ТЭИ

Группа	Латентный период захода в темный отсек в УРПИ			Латентный период подныривания в ТЭИ		
	обучение	24 часа	7 суток	обучение	24 часа	7 суток
Контроль	45,5 ± 9,9	155,1 ± 10,0	156,5 ± 9,0	34,5 ± 8,0	21,5 ± 7,0	7,4 ± 1,0
(R)-толибут 2,5 мг/кг	86 ± 30	180 ± 0	153 ± 26	64 ± 29	47 ± 28	29 ± 20
(R)-толибут 5 мг/кг	20,7 ± 1,4	143 ± 23	180 ± 0	33,5 ± 4,0	16,5 ± 7,0	2,0 ± 0,6
(R)-толибут 10 мг/кг	72,3 ± 34,0	180 ± 0	128,3 ± 32,0	19 ± 4,4	7,0 ± 1,9	1,7 ± 0,4
(R)-толибут 20 мг/кг	31,3 ± 6,9	126,7 ± 33,0	124 ± 35	<b>13,0 ± 2,6*</b>	23,7 ± 5,0	5 ± 1
R,S-толибут 2,5 мг/кг	24 ± 7	152 ± 27	113 ± 23	38 ± 16	16 ± 9	11 ± 3
R,S-толибут 5 мг/кг	73,3 ± 33,8	180 ± 0	180 ± 0	<b>11 ± 3*</b>	<b>3,7 ± 1,4*</b>	1,3 ± 0,2
R,S-толибут 10 мг/кг	<b>100 ± 27*</b>	180 ± 0	180 ± 0	28,5 ± 6,0	<b>7 ± 1*</b>	3 ± 1
R,S-толибут 20 мг/кг	72,3 ± 34,2	180 ± 0	180 ± 0	<b>4,0 ± 1,1*</b>	48 ± 4	9,0 ± 0,7

\* Различия достоверны относительно группы контроля при  $p < 0,05$ .

Полученные результаты дают возможность предположить, что по мере увеличения вводимой дозы рацемата, влияние на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность трансформируется в сторону снижения двигательной активности, что позволяет связать эффективность рацемата в дозе 10–20 мг/кг с (R)-изомером. Более выраженный ноотропный эффект рацемической формы толибута в сравнении с (R)-изомером позволяет также считать, что эта разница обусловлена действием (S)-изомера.

Вышеперечисленные свойства изомеров толибута позволяют предположить перспективность дальнейшего изучения их анксиолитических и иных психотропных свойств.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

(R)-изомер толибута обладает более выраженным седативным действием и более низкой токсичностью по сравнению с рацемическим толибутом. Рацемическая форма толибута оказывает активирующее действие (повышает уровень двигательной и ориентировочно-исследовательской активности), а также обладает более выраженным анксиолитическим и ноотропным действием, чем (R)-изомер.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Куркин Д.В., Морковин Е.И., Осадченко Н.А., и др. Коррекция психоневрологических проявлений алкогольного

похмелья у крыс ацетилцистеином // Фармация и фармакология. – 2019. – Т. 7, № 5. – С. 291–299. – DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-5-291-299.

2. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с.

3. Перфилова В.Н., Тюренков И.Н. и др. Антиишемическое действие толильных производных гамма-аминомасляной кислоты // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2005. – № 1 (13). – С. 30–33.

4. Резников А.Н., Островский В.А., Климоочкин Ю.Н. Синтез нерацемических тетразольных аналогов ГАМК // Органическая химия. – 2018. – № 54 (11). – С. 1699–1704.

5. Casale R., Symeonidou Z., Bartolo M. Topical Treatments for Localized Neuropathic Pain // Curr Pain Headache Rep. – 2017. – Vol. 21 (3). – DOI:10.1007/s11916-017-0615-y.

6. Chhabra N., Aseri M.L., Padmanabhan D.A. Review of drug isomerism and its significance // Int J Appl Basic Med Res. – 2013. – Vol. 3 (1). – P. 16–18. – URL: doi.org/10.4103/2229-516X.112233.

7. Lorrain I., Maccioni P., Gessa G.L., Colombo G. R(+)-Baclofen, but not S(-)-Baclofen, alters alcohol self-administration in alcohol-preferring rats // Front Psychiatry. – 2016. – Vol. 7. – URL: doi.org/10.3389/fpsy.2016.00068.

8. Morozov I.S., Kovalev G.I., Maisov N.I., et al. Effect of analogs of  $\gamma$ -aminobutyric acid on the uptake of [ $^3$ H]- $\gamma$ -aminobutyric acid by synaptosomes of the rat brain // Pharm Chem. – 1977. – Vol. 11. – P. 10–12. – URL: doi.org/10.1007/BF00779108.

9. Tyurenkov I.N., Borodkina L.E., Bagmetova V.V., et al. Comparison of nootropic and neuroprotective features of aryl-substituted analogs of gamma-aminobutyric acid //

Bull. Exp. Biol. Med. – 2016. – Vol. 160 (4). – P. 465–469. – URL: doi.org/10.1007/s10517-016-3198-4.

**REFERENCES**

1. Kurkin D.V., Morkovin E.I., Osadchenko N.A., et al. Korrektsiya psikhonevrologicheskikh proyavleniy alkogol'nogo pokhmel'ya u kryv atsetiltsisteinom [Correction of psychological and neurological signs of alcohol hangover in rats with acetylcysteine]. *Farmatsiya i farmakologiya* [Pharmacy & Pharmacology], 2019, no. 5, pp. 291–299. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-5-291-299. (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Mironov A. N. Guidelines for preclinical trials of medicinal products. Part 1. Moscow, Grif i K Publ., 2012. (In Russ.; abstr. in Engl.)

3. Perfiliva V.N., Tyurenkov I.N., et al. Antiischemicheskoye deystviye tolil'nykhproizvodnykh gamma-aminomaslyanoy kisloty [Antiischemic effect of tolyl derivatives of gamma-aminobutyric acid]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd State Medical University], 2005, no. 1 (13), pp. 30–33. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Reznikov A.N., Ostrovsky V.A., Klimochkin Yu.N. Sintez neratsemicheskikh tetrazol'nykh analogov GAMK [Synthesis of nonracemic tetrazole analogs of GABA]. *Zhurnal organicheskoy*

*khimii* [Russian Journal of Organic Chemistry], 2018, no. 54 (11), pp. 1699–1704. (In Russ.; abstr. in Engl.).

5. Casale R., Symeonidou Z., Bartolo M. Topical treatments for localized neuropathic pain. *Curr Pain Headache Rep*, 2017, vol. 21 (3). DOI:10.1007/s11916-017-0615-y.

6. Chhabra N., Aseri M.L., Padmanabhan D.A. Review of drug isomerism and its significance. *Int J Appl Basic Med Res*, 2013, vol. 3 (1), pp. 16–18. URL: doi.org/10.4103/2229-516X.112233.

7. Lorrai I., Maccioni P., Gessa G. L., Colombo G. R(+)-Baclofen, but not S(-)-baclofen, alters alcohol self-administration in alcohol-preferring rats. *Front Psychiatry*, 2016, vol. 7. URL: doi.org/10.3389/fpsy.2016.00068.

8. Morozov I.S., Kovalev G.I., Maisov N.I., et al. Effect of analogs of  $\gamma$ -aminobutyric acid on the uptake of [3H]- $\gamma$ -aminobutyric acid by synaptosomes of the rat brain. *Pharm Chem*, 1977, vol. 11, pp. 10–12. URL: doi.org/10.1007/BF00779108.

9. Tyurenkov I.N., Borodkina L.E., Bagmetova V. V., et al. Comparison of nootropic and neuroprotective features of aryl-substituted analogs of gamma-aminobutyric acid. *Bull Exp Biol Med*, 2016, vol. 160 (4), pp. 465–469. URL: doi.org/10.1007/s10517-016-3198-4.

**Контактная информация**

**Бакулин Дмитрий Александрович** – к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: mbfdoc@gmail.com