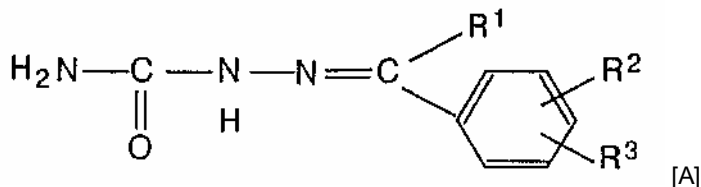


Цей винахід стосується семікарбазонових сполук, які мають вплив на активність центральної нервової системи (ЦНС), і фармацевтичних препаратів, які містять такі сполуки. Більш детально, винахід має відношення до семікарбазонів, які мають протисудомні властивості, і до використання таких семікарбазонів для лікування або запобігання судом і нападів у людей і тварин.

На протязі багатьох років існує зацікавленість в отриманні ліків, які впливають на активність центральної нервової системи людини і тварин, і, зокрема, протисудомних препаратів, які використовуються для лікування і запобігання епілептичних випадків і інших розладів центральної нервової системи.

Попередні роботи, проведені одним з авторів цього винаходу (Dimmock et al., J. Med. Chem., 1993, 36, pp. 2243-2252), показали, що зразки арил семікарбазонів загальної формули А



мають протисудомну активність при внутрішньочеревному введенні мишам у випробуваннях максимальним електрошоком (ВМЕ) і у випробуваннях підшкірним введенням пентилентетразола (впПТЗ). Ці випробування є тестовими системами, розробленими для визначення сполук, які могли б запобігти генералізованим тонічно-клонічним приступам і, відповідно, забезпечити повну відсутність судом. Випробування ВМЕ і впПТЗ дискутувались Краллом (Krall) та іншими в статті "Krall et al. «Antiepileptic drug development: II. Anticonvulsant drug screening», *Epilepsia*, 1978, 19, pp. 409-428"; в цій праці розкриття згаданих методів наводиться як посилання.

Однак сполуки формули А виявились нейротоксичними при введенні описаним шляхом, і індекси захисту (ІЗ, а саме: відношення $1D_{50}/ED_{50}$) десяти наведених сполук були низькими.

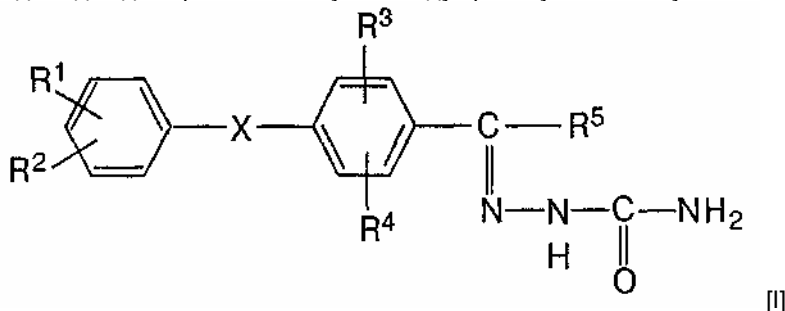
Таким чином, необхідні сполуки з виявленням поліпшених протисудомних ефектів та зменшеною токсичністю.

Об'єктом винаходу є отримання сполук, які мають вплив на активність центральної нервової системи.

Іншим об'єктом винаходу є отримання фармацевтичних препаратів, які мають добру протисудомну активність і прийнятну нейротоксичність.

Ще одним об'єктом винаходу є розробка таких методів лікування судом у людей і тварин, які не дають небажаних побічних ефектів.

Відповідно до першого аспекту винаходу пропонується сполука загальної формули І



де: R^1 , R^2 , R^3 і R^4 можуть бути однаковими або різними і кожен являє собою атом водню або галогену, або C_{1-9} алкілну, C_{5-9} циклоаліфатичну, ціанову, C_{1-9} алкокси або C_{6-10} арилокси групу; R^5 являє собою атом водню або C_{1-9} алкілну, C_{3-9} циклоалкілну або C_{6-10} арильну групу; і X - це кисень або сірка. В сполуках винаходу алкільні замісники, якщо вони присутні, можуть бути прямоланцюговими або розгалуженими.

Однак слід зазначити, що вищенаведена сполука Формули І, де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 і R^5 є атомами водню, вже відома з "Tomita et al., «Synthesis of Aldehyde Derivatives Containing a Diphenyl Ether Nucleus», J. Pharm. Soc. Japan, 1955, 75, 1021-1023", але ця стаття не розкриває протисудомної властивості сполуки.

Відповідно до іншого аспекту винаходу отримується препарат, який містить в собі сполуку загальної формули І і прийнятні з фармацевтичної точки зору розріджувач, наповнювач або носій.

Відповідно до ще одного аспекту винаходу забезпечується метод лікування захворювань центральної нервової системи людей і тварин, який передбачає введення пацієнтам ефективної дози сполуки загальної формули І.

Сполуки винаходу можуть бути введені орально і при цьому виявляти дуже високу дію проти судом при захворюваннях ЦНС, тобто можуть мати значення ED_{50} (для випробувань максимальним електрошоком у щурів) в діапазоні 1-5мг/кг (звичайно в діапазоні 2-3мг/кг) і при цьому не виявляти нейротоксичності при максимальній використаній дозі (тобто 500мг/кг), тобто вони мають надзвичайно придатні значення індексу захисту (ІЗ).

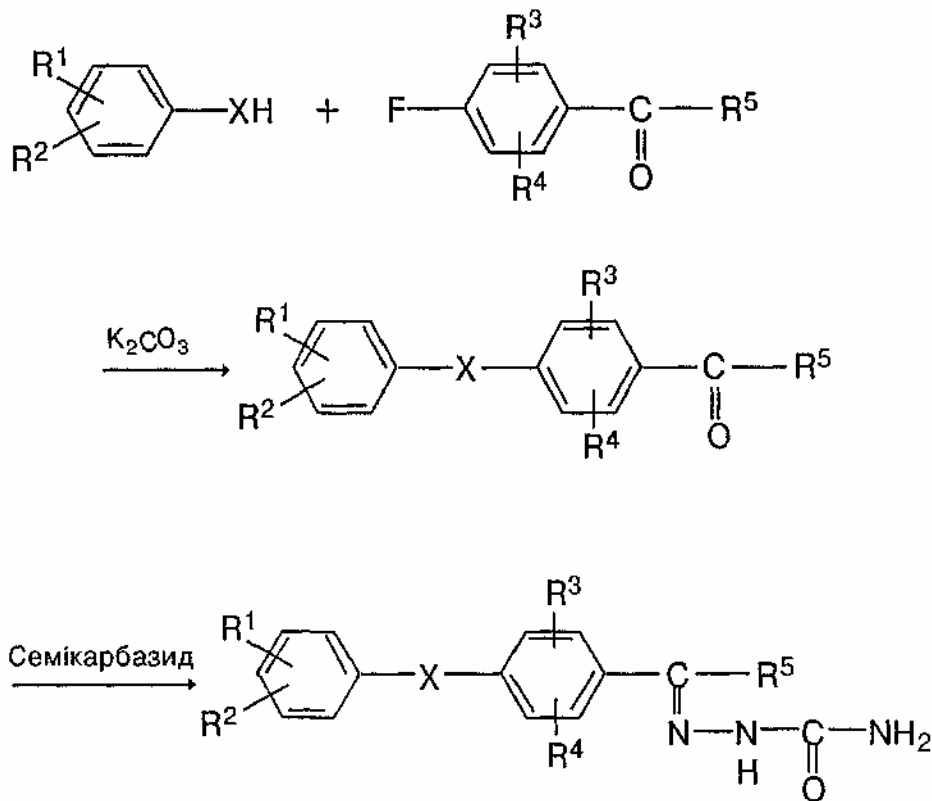
Сполуки винаходу мають один або кілька механізмів дії, які відрізняються від механізмів дії звичайних протисудомних препаратів. Більш того, можна вважати, що сполуки винаходу вільні від деяких недоліків звичайних протисудомних препаратів через відсутність принаймні у деяких сполук винаходу протисудомних властивостей і негативного впливу на активність певних ферментів печінки.

На Фіг.1 спрощено представлена гіпотетична частина рецептора, яка показує різні області зв'язування для сполук, які відповідають цьому винаходу.

На Фіг.2 наведені структурні формули для позначення сполук, перелічених в Таблицях з 1 по 3; і

На Фіг.3 наведені структурні формули для позначення сполук, перелічених в Таблицях з 4 по 6.

Сполуки цього винаходу і сполуки, що мають споріднені структури, можуть бути синтезовані різними хімічними методами, наприклад модифікацією метода, описаного Yeager та ін. («A Convenient Method for the Preparation of 4-Aryloxyphenols», *Synthesis*, 1991, pp. 63-68; в цій праці опис метода наведений посиланням). Yeager та ін. описують процес для отримання арилоксибензальдегідів або арилоксиарилкетонів. Ці проміжні продукти можуть потім реагувати з семікарбазидами. Цей процес проілюстрований схемою реакції, що наведена нижче:



Наведена вище схема реакції потребує утворення проміжних арилокси- або арилтіобензальдегідів, або кетонів через реагування відповідних фенолів або тіофенолів з фторбензальдегідом або фторарил кетонами в придатному розчиннику (наприклад, диметилацетамід) в присутності безводного карбонату калію при температурі в межах від 100 до 200°C при атмосферному тиску газу, який не окислює (наприклад, азот), при нагріванні зі зворотним охолодженням на протязі 5-10 годин. Після охолодження і додавання води проміжний продукт може бути екстрагований органічним розчинником (наприклад, хлороформом) і висушений.

Після цього проміжні арилокси(тіо)бензальдегіди і арилокси(тіо)арил кетони перетворюють на бажані семікарбазони в водному розчині етанолу на протязі від однієї до декількох годин при температурі оточуючого середовища, і потім одержаний осад кінцевого продукту збирають і рекристалізують. Вихідні матеріали, які звичайно реагують в приблизно стехіометричних кількостях, є комерційними продуктами і можуть, зокрема, бути отриманими від Aldrich Chemical Company, Мілуокі, США.

Без наміру обмеження винаходу рамками окремої теорії припускається, що сполуки цього винаходу виявляють протисудомну активність, розташовуючи свої молекули біля гіпотетичної частини рецептора мозку людини або тварини; теоретично така взаємодія має місце в трьох зонах рецептора, а саме: в ділянці, що зв'язує арил, ділянці, що зв'язує водень, і в дистальній ділянці, як проілюстровано на Фіг. 1.

Припускається, що ці ділянки реагують з проксимальним арильним кільцем (кільце, найближче до семікарбазонової групи), з самою семікарбазоною ($H_2NCONHN=$) групою та з дистальним арильним кільцем сполук, відповідно. Присутність дистального арильного кільця, певних груп замісників на периферії і, в меншій мірі, проксимального арильного кільця в сполуках винаходу виявляється в посиленні приєднання молекули до рецептора і, таким чином, в збільшенні ефективності сполук.

Систематизований синтез і оцінка сполук Формули I та сполук з близько спорідненими структурами дозволили вивести наступні загальні принципи.

(i) Заміщення метин водню, приєданого до атому вуглецю карбімінової групи, на більш великі групи не впливає суттєво на протисудомну активність сполук; (ii) розміщення арилокси або арилтіо груп в орто-або мета/положеннях проксимального кільця веде до зниження або відсутності протисудомної активності; (iii) заміщення кисню ефірної групи на сірку або сульфеноксид групи веде до сполук із схожою протисудомною дією, тоді як інші замісники знижують протисудомну ефективність; (iv) зменшення величини замісників на дистальному арильному кільці збільшує протисудомну активність; і (v) висока протисудомна активність досягається в випадку, коли хоча б один замісник на дистальній алкіл групі знаходиться в пара положенні.

Отже, найкращими сполуками цього винаходу є сполуки, в яких R^1 і R^2 - це водень або галоген (найкраще фтор); R^3 , R^4 - кожен є воднем; і R^5 - це водень або C_{1-3} алкіл; і X - це O або S (найкраще O).

Найкращими сполуками, відповідно до цього винаходу, є 4-(4'-фторфенокси)бензальдегід семікарбазон і 4-(тіофенокси)бензальдегід семікарбазон. Ці сполуки виявили високу активність в ВМЕ випробуванні, низьку токсичність і надали захист в випробуванні збудження рогиці щура без негативних особливостей, таких як

просудомні властивості.

До речі, тест збудження щура описаний R. J. Racine в «Modification of Seizure Activity by Electrical Stimulation. II. Motor Seizure», Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 1972, 32, 281-294, і G. Skeen та ін. в «Development of Kindled Seizures Following Electrical Stimulation via the Cornea», 1990, 16(1), 307; розкриття якого включається в цей документ посиланням.

Сполуки цього винаходу можуть в деяких випадках мати достатньо високу нейротоксичність при внутрішньочеревному введенні миші. Наприклад, було встановлено, що нейротоксичність має місце приблизно у 65% сполук, які випробовували, а кількісне визначення біоактивностей сполук винаходу дало значення ІЗ в межах 2-14 в випробуванні МЕВ і 1-3 в випробуванні вППТЗ. Однак було знайдено, що така нейротоксичність зникає або зменшується до прийнятного рівня при введенні сполук щурам оральним шляхом. Більш того, в той час як сполука виявляє високу активність в обох випробуваннях МЕВ і вППТЗ при внутрішньочеревному введенні, при оральному введенні активність сполук в випробуванні МЕВ залишається високою, але активність в випробуванні вППТЗ може погіршуватись. Наприклад, для сполуки 4-(4'-фторфенокси)бензальдегід семікарбазон доза для орального введення щурам, яка давала значення ED₅₀ в оральному випробуванні, 1.59мг/кг, а ІЗ більше ніж 315. Однак сполука не надавала захисту в випробуванні вППТЗ при дозі 125мг/кг, і тільки 10% щурів були захищені при дозі 250мг/кг. Відсутність нейротоксичності при максимальній дозі, яку використовували (500мг/кг), вела до виключно високого індексу захисту.

Сполуки винаходу можуть бути введені людям оральним шляхом, найкраще в дозах 50-75мг/кг, звичайно в формі сумішей з інертними фармацевтично прийнятними сполуками, такими як розріджувачі (наприклад, дигідрофосфат кальцію, дигідросульфат кальцію, целюлоза, декстроза, лактоза, манітол, крохмаль, сорбіт, сахароза і матеріали на основі сахарози), в'яжучі речовини і адгезиви (наприклад, гуміарабік, похідні целюлози, желатин, глюкоза, полівінілпіролідон (ПВП), альгинати, сорбіт, попередньо клейстеризований крохмаль або крохмальна паста і трагакант), дезінтегратори (наприклад, альгинати, целюлоза і похідні целюлози, глиноземи, зшиті ПВП, крохмаль і похідні крохмалю), замаслювачі (наприклад, поліетиленгліколи, стеаринові кислоти, солі і похідні, поверхнево-активні речовини, тальк і віск), речовини, що забезпечують ковзання (кукурудзяний крохмаль, похідні кремнезему і тальк), барвники, смакові добавки і замітники цукру (наприклад, FD&C і D&C фарби і лаки, ароматичні масла і смакові домішки, висушені розбризкуванням, штучні і натуральні замітники цукру).

Препарати можуть бути виготовлені в одній з будь-яких звичайних форм для орального введення, наприклад у вигляді порошків, капсул, таблеток, драже, пастилок, розчинів, сиропів та ін.

Винахід докладно описано в Прикладах, що подаються далі; ці приклади не мають наміру обмежувати рамки винаходу.

Сполуки від 2a до 5v, наведені нижче в Таблиці 1, були синтезовані згаданим раніше методом. Структури перелічених сполук відповідають показаним на Фіг.2, які позначені тією ж самою першою цифрою (2, 3, 4 або 5), що й замісники з Таблиці 1.

Таблиця 1

Замісники арилу, фізичні дані і оцінка протисудомної дії
після внутрішньочеревної ін'єкції мишам і орального введення ,щурам сполук в серіях 2-5

Сполука	Замісники арилу	т.п. (°C)	Вихід %	внутрішньочеревна ін'єкція мишам ^a						оральне введення щурам ^b				
				МЕВ		ПвПТЗ		токсичність		доза мг/кг	МЕВ			
				випробування	випробування	випробування	випробування	0,5г	4г		0,25г	0,5г	1г	2г
2a	H	198-199	40	--	--	--	--	--	--	50	--	--	2	1
2h	4-F	210-212	48	--	--	--	--	--	--	30	0	0	1	2
3	H	224-225	70	--	300	--	--	--	--	50	--	--	--	--
4a	H	224-225	60	100	300	--	--	--	--	50	--	3	4	4
4b	4-F	233-234	65	30	100	--	--	--	--	50	2	4	4	4
4c	4-Cl	225-226	40	30	30	30	--	300	30	50	4	4	4	4
4d	4-Br	225-226	60	30	30	--	--	300	30	50	1	4	4	4
4e	4-I	221-222	71	30	30	100	300	300	100	50	3	4	4	4
4f	4-CH ₃	219-221	50	30	100	--	--	--	--	50	3	4	4	4
4g	4-C ₆ H ₅	280	72	--	300	--	300	--	300	12.5	--	--	--	3
4h	4-OCH ₃	218-220	60	100	100	--	--	--	300	50	--	4	4	4
4i	4-C ₆ H ₅	209-210	55	--	300	--	--	--	--	50	--	--	--	1
4j	4-CN	218-220	40	30	30	30	30	300	100	12.5	2	4	4	4
5a	2-F	228-230	42	100	300	300	--	--	--	50	2	4	4	4
5b	3-F	209	42	30	300	100	--	300	300	50	4	4	4	4
5c	2,3-F ₂	225	50	100	100	300	--	--	--	12.5	--	3	4	4
5d	2,4-F ₂	229-230	42	30	30	100	--	--	--	50	3	4	4	4
5e	2,5-F ₂	230	65	100	300	100	--	300	300	12.5	--	1	1	4
5f	2,6-F ₂	232	30	30	30	300	300	300	300	12.5	0	2	4	4
5g	3,4-F ₂	212-213	86	100	30	30	300	--	--	50	2	4	4	4
5h	2-Cl	207-208	42	30	30	100	300	300	--	50	3	4	4	4
5i	3-Cl	185-186	35	30	100	30	300	300	100	50	--	4	4	4

5j	3,4-Cl ₂	216-217	45	300	30	--	--	--	300	50	--	2	4	4	4
5k	2-F,4-Cl	225-226	60	30	30	--	--	100	30	12.5	2	4	4	4	4
5l	2-Cl,4-F	209-210	59	30	30	--	--	100	300	50	4	4	4	4	4
5m	2-Br,4-F	203-205	40	100	100	300	--	300	300	50	4	4	4	4	4
5n	2-CH ₃	205	25	30	100	100	100	300	300	12.5	--	4	3	4	4
5o	3-CH ₃	205-206	35	30	100	--	--	100	300	12.5	--	4	4	3	2
5p	4-C ₂ H ₅	210	40	30	30	300	--	300	100	12.5	--	2	4	4	4
5q	4-n-C ₃ H ₇	215	53	100	100	300	--	--	300	12.5	--	1	2	4	2
5r	4-s-C ₄ H ₉	192-193	38	100	30	--	100	300	100	12.5	--	2	2	3	4
5s	4-t-C ₄ H ₉	200-202	48	100	30	--	100	100	100	12.5	--	--	4	4	4
5t	4-t-C ₈ H ₁₇	190	30	--	--	--	--	--	300	-	-	-	-	-	-
5u	4-O-p-C ₄ H ₉	203	35	300	100	300	300	300	300	12.5	--	--	--	-	2
5v	4-O-p- <i>n</i> -C ₇ H ₁₅	204-206	20	--	--	--	--	300	-	-	-	-	-	-	-
Фенітоїн				30	30	--	--	100	100	-	-	-	-	-	-
Карбамазепін				30	100	100	300	100	300	-	-	-	-	-	-
Валпроїва кислота				--	--	300	--	--	-	-	-	-	-	-	-

^a Були введені дози 30, 100 і 300мг/кг. Цифри в таблиці показують мінімальну дозу, при введенні якої спостерігалась біоактивність препарату у половини або більшої кількості мишей. Тварин перевіряли через 0.5 і 4 годин після зробленої ін'єкції. Лінії -- показують відсутність протисудомної активності і нейротоксичності.

^b Цифри в випробуванні показують кількість шурів із 4, що були взяті для випробувань, які були захищені. Лінії -- показують, що активність не спостерігалась, і позначка - вказує, що сполука не випробувалась.

Подробиці синтезу різних сполук наведені нижче.

Синтез проміжних сполук

3-феноксibenзальдегід, який використовується як вихідний матеріал для синтезу сполуки 3, отримували від Aldrich Chemical Company, Мілуокі, WI. Проміжні арилоксиарил і арилтіоарил альдегід, потрібні в синтезі інших, сполук готували як наведено нижче.

Безводний карбонат калію (0.12M) додавали до розчину придатного фенолу або тіофенолу (0.15M) і 4-фторбензальдегіду, 4-фторацетофенону або 4-фторпропіофенону (0.14M) в диметилацетаміді (100мл). Суміш нагрівали в колбі із зворотним холодильником при 155°C в атмосфері азоту і контролювали процес за допомогою хроматографії в тонкому шарі (ХТШ), використовуючи бензол:метанол (9:1 по об'єму) як систему розчинників. Приблизно після 5-10 годин суміш охолоджували і додавали воду (100мл). Реакційну суміш екстрагували хлороформом (2x100мл) і зібрані органічні екстракти відмивали водним розчином гідроксиду натрію (4% вага/об'єм) і водою. Після висушування над безводним сульфатом магнію розчинник видаляли під вакуумом і отримане масло дистильовали при зниженому тиску для отримання придатного арилоксиарилу, арилтіоарилового альдегіду або кетону. Чистоту дистилату перевіряли за допомогою хроматографії в тонкому шарі (ХТШ), використовуючи бензол:метанол (9 : 1 по об'єму) як розчинник. Нижче наведений ¹H ЯМР спектр проміжного продукту, а саме 4-феноксibenзальдегіду: δ (CDCl₃): 9.94 (s, 1H, CHO), 7.82-7.88 (2t, 2H, орто H проксимального арильного кільця), 7.38-7.46 (3t, 2H, мета H проксимального арильного кільця), 7.20-7.27 (3t, 1H, пара H дистального арильного кільця), 7.03-7.12 (3t, 4H, орто H дистального арильного кільця).

Синтез кінцевих сполук

Суміш семікарбазид гідрохлориду (0.01M), ацетату натрію (0.01M) і води (10мл) повільно додавали при перемішуванні до розчину арилоксиарилу або арилтіоарил альдегіду (0.01M) в етанолі (95%, 30мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі 1-2 години, осад збирали, відмивали ефіром, висушували і рекристалізували із 95% етанолу (сполуки 3, 4b, 4e, 4h, 5b-e, 5k-t, 5v), абсолютного етанолу (сполуки 4a, 4c, 4d, 4g, 4j, 5a, 5t-j, 5u) або метанолу (сполука 4f). Наведена в літературі температура плавлення (°C) сполуки 4a - 219-220°C.

Температури плавлення, наведені для різних сполук, не є точними. Помилка результатів елементного аналізу (C, H, N) складала 0.4% від обчислених величин, окрім сполуки 5l (обчислене для C₁₅H₁₅N₃O₂: N, 15.60. Знайдено: N, 14.80). ¹H ЯМР спектроскопію виконували використовуючи BRUKER AM 300 FT (торгова марка) ЯМР спектрометр. Хроматографію в тонкому шарі проводили використовуючи пластини силікагелю з флуоресцентним індикатором.

Синтез сполук типу фігури 3

3-бензилоксибензальдегід, потрібний в синтезі незаміщеної сполуки, отримували від Aldrich Chemical Company, Мілуокі, WI. Інші проміжні альдегіди готували, як наведено нижче.

Хлорид бензоїлу або 4-хлорбензоїл хлорид (0.05M) додавали до розчину 4-гідроксибензальдегіду (0.04M) в піридині (100 мл). Після витримки на протязі ночі при кімнатній температурі реакційну суміш виливали в оцтову кислоту (2N, 100мл). Осад збирали, відмивали водою і рекристалізували із суміші вода-метанол для отримання 4-бензоїлоксибензальдегіду і 4-(4-хлорбензоїлокси)бензальдегіду, потрібного в синтезі сполук 68 і 69, відповідно. 4-фенілсульфонілбензальдегід, який використовували в синтезі сполуки 70, готували, як наведено нижче. Суміш бензолсульфінату натрію (0.11M) і 4-фторбензальдегіду (0.1M) в сухому диметилсульфоксиді (75мл) перемішували при 100°C 18 годин в атмосфері азоту і потім виливали суміш на лід (приблизно 200г). Осад збирали, відмивали водою і рекристалізували із етанолу (95% об'єм/об'єм). Накінець, бензолсульфоніл хлорид або 4-метилбензолсульфоніл хлорид (0.20M) додавали по краплині до розчину 4-гідроксибензальдегіду (0.16M) в дихлорметані (90мл) і триетиламіні (3-5мл) при перемішуванні при температурі від 0 до 10°C на протязі 10 хвилин. Після подальших 15 хвилин реакційну суміш розбавляли дихлорметаном і послідовно екстрагували водою, соляною кислотою (10% вага/об'єм), насиченим розчином бікарбонату натрію і насиченим розчином хлориду натрію. Після висушування органічного екстракту видаляли розчинник і отримували проміжний продукт, потрібний для подальшого синтезу. За результатами ХТШ

(розчинник бензол : метанол (7 : 3)) сполуки були однорідні і температури плавлення співпадали з наведеними в літературі.

Ці проміжні альдегіди піддавали реакції з семікарбазидом, як описано раніше.

Синтез сполук типів 17 і 18 фігури 3

Ці сполуки готували із придатних ариллоксарил і арилтіоарил альдегідів, використовуючи методи, описані в літературі (Dimmock, J.R.; McColl, J.M.; Wonko, S.L.; Thayer, R.S.; Hancock, D.S. Evaluation of the thiosemicarbazones of some aryl alkyl ketones and related compounds for anticonvulsant activities. Eur. J. Med. Chem. 1991, 26, 529-534; and Dimmock, J.R.; Puthucode, R.N.; Lo, M.S.; Quail, J.W.; Yang, J.; Stables, J.P. Structural modifications of the primary amino group of anticonvulsant aryl semicarbazones. Pharmazie, 1996, 51, 83-88.). Час нагріву реактивів в колбі зі зворотним холодильником складав 6 годин, тоді як час перемішування реактивів при кімнатній температурі складав вісім, десять і чотирнадцять годин. В одному випадку реакційну суміш нагрівали при 60°C на протязі 0.5 години. Всі сполуки цього типу були рекристалізовані із етанолу (95% об'єм/об'єм).

Величини log P були визначені раніше опублікованим методом (Dimmock, J.R.; Phillips, O.A.; Wonko, S.L.; Hickie, R.A.; Tuer, R.G.; Ambrose, S.J.; Reid, R.S.; Mutus, B.; Talpas, C.J. Evaluation of some Mannich bases of conjugated styryl ketones and related compounds versus the WiDr colon cancer in vitro. Eur. J. Med. Chem. 1989, 24, 217-226.), окрім тих розчинів, які отримували використовуючи 1-октанол, до якого додавали буфер. Величини $\lambda_{\text{макс}}$ і ϵ сполук були отримані в 1-октанолі, а не в сольовому фосфатному буфері з pH 7.4, через низьку розчинність сполук в воді.

Приклад 2

Первісну оцінку протисудомної дії сполук, які отримали відповідно до Прикладу 1, проводили за допомогою введення мишам сполук внутрішньочеревним шляхом. Захист і/або нейротоксичність відмічали через 0.5 і 4 години після введення тваринам доз 30, 100 і 300мг/кг кожного семікарбазона. Ці результати представлені в Таблиці 1, яка наведена вище.

Всі сполуки були активні в випробуванні МЕВ, окрім сполук 2a, b, 5t, v, і захист надавали 60% сполук в тесті пвПТЗ. Нейротоксичність була виявлена приблизно у 70% семікарбазонів. Була зроблена кількісна оцінка біоактивності відібраних сполук, і ці дані наведені в Таблиці 2 нижче:

Таблиця 2. Оцінка відібраних сполук в випробуваннях МЕВ, пвПТЗ і нейротоксичності після внутрішньочеревних ін'єкцій мишам.

Сполука	Випробування МЕВ			Випробування пвПТЗ			Випробування нейротоксичності		ІЗ		
	t	ED ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	t	ED ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	t	TD ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	$\left(\frac{TD_{50}}{ED_{50}}\right)_{\text{МЕВ}}$	$\left(\frac{TD_{50}}{ED_{50}}\right)_{\text{пвПТЗ}}$
	г			г			г				
<u>4b</u>	1	12.86 (10.54-7.09)	8.28 (3.00)	1	>54	--	1	108.03 (71.52-57.52)	3.69 (0.96)	8.40	--
<u>4f</u>	1	14.65 (10.44-9.23)	5.59 (1.91)	1	88.55 (45.52-173.94)	1.87 (0.57)	2	203.73 (132.44-71.13)	4.29 (1.31)	13.91	2.30
<u>5a</u>	0.5	20.69 (18.68-2.14)	18.59 (5.63)	0.5	>220	--	2	170.01 (146.81-91.65)	12.36 (3.80)	8.22	--
<u>5c</u>	1	45.78 (41.39-2.15)	15.53 (5.71)	1	>350	--	2	292.55 (209.59-79.29)	5.78 (1.77)	6.39	--
<u>5d</u>	0.25	11.25 (6.68-19.16)	2.78 (0.86)	0.25	57.85 (30.13-93.95)	1.70 (0.54)	1	96.81 (77.60-113.81)	11.50 (4.08)	8.61	1.67
<u>5g</u>	1	14.48 (9.53-18.91)	4.62 (1.35)	0.5	72.78 (49.01-99.12)	4.27 (1.34)	2	94.80 (59.86-156.29)	3.17 (1.09)	6.55	1.30
<u>5i</u>	0.5	27.69 (20.39-6.12)	6.01 (2.08)	0.5	41.16 (26.98-56.74)	3.53 (0.91)	2	64.48 (42.03-84.72)	4.54 (1.36)	2.33	1.57
<u>5l</u>	1	13.12 (8.70-20.12)	3.12 (1.03)	1	>68	--	1	62.46 (55.56-67.86)	15.48 (4.84)	4.76	--
<u>5n</u> <u>5p</u> <u>5r</u>	4	Запланован Запланован 13.36 (10.393-16.258)	6.945 (2.045)	1	86.93 (71.514-108.966)	11.442 (4.493)	4	131.27 (110.848-158.464)	6.467 (1.703)	9.825	1.510
<u>5s</u>	4	8.87 (7.704-4.957)	13.063 (3.833)	4	>150.00	--	4	105.92 (85.053-142.591)	6.313 (1.976)	11.934	<0.706
<u>5t</u>	2	11.27 (8.313-12.872)	10.881 (4.272)	2	>200	--	2	124.53 (81.064-175.187)	3.924 (1.095)	11.048	<0.623
Фенітоїн	1	6.32 (5.44-7.23)	11.24 (3.52)	1	>50	--	0.5	41.23 (36.90-	14.39 (4.82)	6.52	--

Карба-мазепін	0.25	9.85 (8.77-10.7)	20.8 (7.15)	0.25	>50	--	0.25	46.14) 47.8 (39.2-59.2)	7.98 (2.37)	4.85	--
Валпроат	0.25	287 (237-359)	7.31 (2.48)	0.25	209 (176-249)	8.51 (2.69)	0.25	483 (412-571)	12.3 (4.01)	1.68	2.31

Перевіряли активність більшості сполук при оральному введенні щурам. Вводились первісні дози 50мг/кг семікарбазонів. Однак, як свідчать дані Таблиці 1, окрім сполуки 3, всі перевірені при цій дозі сполуки виявили активність в випробуванні МЕВ. В спробі виділити сполуки, які мають значну активність при оральному введенні, доза була знижена в чотири рази, до 12.5мг/кг, виявлено, що захист в випробуванні МЕВ залишився у всіх випадках. При використуванні доз, наведених в Таблиці 1, нейротоксичність була відсутня на протязі періоду часу, що становив 0.25-4 години, окрім сполуки 5l, яка спричинила неврологічний дефіцит у щурів через 1,2 і 4 години після орального введення. Сполуки 4e, 5b, d, g-i, n, q, r оцінювались в випробуванні пвПТЗ в дозах, наведених в Таблиці 1, але вони були або неактивні (5b, d, g, i, q), або виявили тільки маргінальну активність, що детально показано нижче. Була зроблена кількісна оцінка активності відібраних сполук, і отримані величини представлені в Таблиці 3.

Таблиця 3

Оцінка відібраних сполук в випробуваннях МЕВ і нейротоксичності при застосуванні орального шляху введення щурам.

Сполука	Випробування МЕВ			Випробування нейротоксичності			
	t(r)	ED ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	t(r)	TD ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	13 ^a
4b	2	1.59 (1.01-2.25)	3.17 (0.84)	¹ / ₄ -24 ^b	>500	--	>315
4f	2	3.43 (2.282-4.726)	4.121 (1.324)	2	>500	--	>145.57
5c	4	6.15 (3.69-9.71)	2.55 (0.69)	--	--	--	--
5e	2	11.44 (7.61-15.75)	4.12 (1.32)	--	--	--	--
5g	4	2.37 (1.54-3.62)	3.18 (0.81)	¹ / ₄ -24 ^b	>500	--	>210
5k	4	1.13 (0.713-2.005)	2.661 (0.949)	--	>90	--	>79.179
5n	2	5.65 (3.79-7.81)	3.65 (0.98)	¹ / ₄ -24 ^b	>500	--	>88
5o	1	3.07 (2.579-3.944)	7.114 (2.292)	--	>500	--	>162.47
5p	6	6.48 (2.970-15.536)	1.98 (0.753)	--	--	--	--
5q	2	2.63 (1.689-3.926)	3.213 (0.819)	--	>500	--	>190.02
5r	4	3.21 (2.252-4.636)	3.575 (1.022)	--	>3.22	--	>100.16
5s	4	1.68 (1.146-2.438)	4.437 (1.281)	--	>500	--	>297.24
5u	4	45.81 (19.481-315.522)	1.327 (0.524)	--	--	--	--
Фенітоін	2	23.2 (21.4-25.4)	15.1 (4.28)	¹ / ₄ -24 ^b	>500	--	>21.6
Карбама-зепін	1	3.57 (2.41-4.72)	3.84 (1.15)	1	361 (319-402)	11.4 (2.96)	101
Валпроат	0.5	395 (332-441)	8.13 (2.76)	0.5	859 (719-1148)	6.57 (2.17)	2.17

^a ІЗ - індекс захисту, а саме TD₅₀/ED₅₀.

^b Сполука перевірялась через 0.25, 0.5, 1, 3, 4, 6, 8 і 24 години після введення.

Сполуку 4b піддали подальшим біотестам. Для сполуки 4b, після внутрішньочеревної ін'єкції щурам, величини ED₅₀ і TD₅₀ в випробуваннях МЕВ і нейротоксичності були відповідно 2.37 і 80.09мг/кг, і ІЗ дорівнював 33.8. При випробуванні збудження щура величина ED₅₀ для цієї сполуки дорівнювала 3.39. Денну дозу 100мг/кг сполуки 4b вводили щурам орально на протязі трьох діб. Після цього видаляли печінку і порівнювали печінкові тканини тварин, які отримували препарат, і контрольних тварин, а саме: вагу печінки і вихід мікросомальних протеїнів на додаток до активності ферментів цитохрому Р450, р-нітроанізол О-

деметилази, UDP-глюкуронозил трансферази, сульфотрансферази, етоксирезорфін О-деетилази, пентоксирезорфін О-деалкілази, глутатіон S-трансферази і хінон редуктази. Ніяких відмінностей в властивостях між печінками тварин, які отримували препарат, і печінками контрольних тварин не було знайдено ($p > 0.05$).

Обидві сполуки 4b і 5q перевірялись на протисудомні властивості в тесті на внутрішньовенне введення пентилентетразолу на мишах; введені дози дорівнювали величинам ED_{50} і TD_{50} МЕВ сполук 4b і 5q наведених в Таблиці 2. Жодна з сполук не подолати цієї небажаної характеристики, і при використанні дози 108мг/кг сполука 4b збільшувала час до клонусу. Сполуки 4b і 5q також оцінювали на їх можливість запобігати судомам, які спричинені підшкірним введенням мишам бікукуліну і пікротоксину. Семікарбазон 4b надавав частковий захист в цих двох випробуваннях, в той час як 5q був неактивний. На додаток, 4b не надавав захисту при підшкірному введенні мишам стрихніну.

Опис цих тестів в подробицях надається нижче.

Внутрішньочеревна ін'єкція мишам

На додаток до інформації, яка наведена в Таблиці 1, внутрішньочеревні ін'єкції мишам ряду сполук викликають наступні бічні ефекти при різних дозах (мг/кг) і інтервалах часу. По-перше, в випробуванні пвПТЗ відмічали міоклонічне судомне сипання при введенні сполук 4c: 30, 100; 0.5 години і 5f: 100, 300; 0.5 години. По-друге, спостерігали безперервну судомну активність в випробуванні пвПТЗ для сполук: 4c: 300; 0.5 г; 100, 300; 4 г; 4d: 100, 300; 0.5 і 4 г; 4j: 100, 300; 0.5 і 4 г; 5i: 300; 0.5 г; 5l: 300; 0.5 і 4 г; 5o: 100, 300; 0.5 г і 5s: 300; 4 г. Наприкінці 4 годин безперервної судомної активності слідувала смерть в результаті випробування пвПТЗ, коли миші отримували 300мг/кг сполуки 5o.

Оральний шлях введення щурам

При використанні доз, наведених в Таблиці 1, декілька сполук виявили маргінальну активність в випробуванні пвПТЗ. Ці сполуки, а також кількість захищених в різні періоди часу щурів, наведені нижче: 4e: 1/4 після 0.5, 1, 4 г; 5h: 1/4 після 4 г; 5n: 1/4 після 0.5, 1, 2 г і 5r: 1/4 після 1, 4 г і 2/4 після 2 годин.

Внутрішньочеревна ін'єкція сполуки 4b щурам

При внутрішньочеревній ін'єкції сполуки 4b щурам після 4 годин в випробуванні МЕВ були отримані наступні характеристики: ED_{50} , величини 95% CI і відхилення (SE): 2.37, 1.39 - 3.57 і 2.65 (0.76), в цей же час відповідні дані TD_{50} складали 80.09, 66.14 - 87.27 і 17.02 (6.41). Наданий захист після внутрішньочеревого введення 125 і 250мг/кг сполуки 4b в випробуванні пвПТЗ виявили в 0/2 і 1/10 щурів.

Тест збудження щура при використанні сполуки 4b

Тест збудження щура проводили відповідно до наведеної вище процедури. Сполуку 4b вводили оральним шляхом і провокували тварину електричною стимуляцією 2 годинами пізніше. ED_{50} - це доза, потрібна для зменшення приступу судом зі стадії 5 до стадії 3 або менше, і ці стадії описуються таким чином: стадія 1 - це клонус лицевих та ротових м'язів, стадія 2 - це стадія 1 плюс посіпування голови, стадія 3 - це стадія 2 плюс клонус м'язів передніх кінцівок, стадія 4 - це стадія 3 плюс клонус м'язів задніх кінцівок і стадія 5 - це стадія 4 плюс клонус м'язів задніх кінцівок, який повторюється, і падіння. Величини ED_{50} (мг/кг), 95% CI і відхилення (SE) для 4b були 3.93, 2.04-6.09 і 3.62 (1.10). Дані ED_{50} (мг/кг, 95% CI в дужках) і час випробування для трьох порівнюваних ліків наведені нижче: фенітоїн: > 100 , 0.25 г; карбамазепін: 28.90 (7.72 - 75.59), 1 г; і валпроат: 117.41 (67.98-189.02), 0.25 г.

Вплив постійного орального введення сполуки 4b на печінку щурів

Щури отримували 100мг/кг сполуки 4b на протязі 3 діб. Печінки видаляли, зважували і вплив 4b на мітосомальну систему печінки порівнювали з контрольними тваринами, які отримували тільки сполуку-носії (подрібнену ультразвуком 0.5% метил целюлозу).²¹⁻²³

(VI) Оцінка сполук 4b і 5q в тесті періодичного внутрішньовенного введення пентилентетразолу

Сполуки 4b і 5q в розчині метил целюлози (0.5%) були введені внутрішньочеревним шляхом мишам. Були використані дві дози - величини ED_{50} в випробуванні МЕВ і TD_{50} . Через 1 годину в хвостову вену миші вливали розчин пентилентетразолу (0.5%), хлориду натрію і гепарину натрію (10 USP одиниць/мл) в воді зі швидкістю 0.37мл/хв (4b) і 0.34мл/хв (5q). Час з початку вливання до появи перших судом і також до початку клонусу записували для тварин, яких випробовували, і для контрольних тварин. З цих даних отримували кількість введеного пентилентетразолу. Як контрольні та для кожної введеної дози використовували 10 тварин, окрім дози 13мг/кг 4b, для якої було взято 9 тварин. Значення часу до першої судоми в секундах, кількість введеного пентилентетразолу в мг/кг (SE) і величина p були такі: 4b (доза 13мг/кг): 32.2, 32.3 (1.4), >0.05 ; 4b (доза 108 мг/кг): 32.2, 32.6 (0.8), >0.05 ; 5q (доза 15 мг/кг): 32.8, 32.9 (1.4), >0.05 ; 5q (доза 95 мг/кг): 34.6, 34.6 (1.5), >0.05 . Значення часу до появи клонусу в секундах, кількості введеного пентилентетразолу в мг/кг (SE) і величина p були такі: 4b (доза 13мг/кг): 37.6, 37.6 (1.5), >0.05 ; 4b (доза 108мг/кг): 41.5, 42.1 (1.4), >0.05 ; 5q (доза 15мг/кг): 41.2, 41.2 (2.6), >0.05 ; 5q (доза 95мг/кг): 44.4, 44.4 (2.5), >0.05 .

(VII) Оцінка сполук 4b і 5q при використуванні інших моделей хімічно спричинених судом

Різні дози сполук 4b і 5q були введені мишам за 1 годину (4b) або 0.5 години (5q) до підшкірного введення мишам доз хемоконвульсантів бікукуліну і пікротоксину. Сполуку (4b) також перевіряли на ефект захисту після підшкірного введення стрихніну. В випадку введення сполуки (4b) кількість тварин, захищених в випробуванні підшкірним введенням бікукуліну при різних дозах (мг/кг), була така: 0/8 (54), 3/8 (108) і 3/8 (216). В випробуванні підшкірним введенням пікротоксину захист при різних дозах був таким: 1/8 (27), 5/16 (108), 2/8 (216). Сполука 5q не показала ніякого ефекту в діапазоні доз 12-96мг/кг в цих двох випробуваннях. Семікарбазон 4b не надавав захисту в випробуванні підшкірним введенням стрихніну при використуванні доз в діапазоні 13.5-108мг/кг. Використовували по дві тварини на кожну дозу, окрім випробувань бікукуліну і пікротоксину для сполуки 4b, в яких брали 8 або 16 тварин на кожну дозу.

Приклад 3

Були отримані сполуки, які мають структури, показані в Таблиці 4. Структури перелічених сполук відповідають таким, що показані на Фіг.3 і помічені однаковим першим числом (12, 13, 14, 15, 16, 17 або 18) із замісниками, які наведені в Таблиці 4.

Таблиця 4

Замісники арилу, фізичні дані і оцінка протисудомної дії після внутрішньочеревної ін'єкції мишам і орального введення щурам сполук в серіях 12-18^a

Сполука	R ¹	R ²	т.п. (°C)	Вихід %	внутрішньочеревна ін'єкція мишам ^b						оральне введення щурам ^c					
					МЄВ		пвПТЗ		токсичність		Доза мг/кг	МЄВ випробування				
					Випробування		випробування		0,5г	4г		0,25г	0,5г	1г	2г	4г
<u>12a</u>	H	F	240	65	30	100	--	--	--	--	50	2	4	4	4	4
<u>12b</u>	H	H	224-225	60	100	300	--	--	--	--	50	--	3	4	4	4
<u>12c</u>	H	Cl	225-226	40	30	30	30	--	300	30	50	4	4	4	4	4
<u>12d</u>	H	Br	225-226	60	30	30	--	--	300	30	50	1	4	4	4	4
<u>12e</u>	H	CH ₃	219-221	50	30	100	--	--	--	--	50	3	4	4	4	4
<u>13a</u>	CH ₃	H	169-171	60	30	100	--	--	100	100	30	4	4	4	4	4
<u>13b</u>	CH ₃	F	182-184	74	30	30	100	--	300	100	12.5	--	4	4	4	4
<u>13c</u>	CH ₃	Cl	192-194	60	30	30	--	30	30	100	30	3	4	4	4	4
<u>13d</u>	CH ₃	Br	195-197	30	30	30	300	--	300	100	12.5	1	3	4	4	4
<u>13s</u>	C ₂ H ₅	H	154-156	58	30	100	--	--	100	100	30	1	4	3	3	--
<u>13f</u>	C ₂ H ₅	F	170-172	72	30	30	100	--	300	100	12.5	--	2	4	4	4
<u>13g</u>	C ₂ H ₅	Cl	186-188	38	30	--	300	--	300	100	30	--	1	4	4	4
<u>13h</u>	C ₂ H ₅	Br	184-186	38	30	30	100	--	300	100	12.5	--	2	4	4	4
<u>14a</u>	CH ₃	H	136-138	14	300	--	300	--	300	--	-	-	-	-	-	-
<u>14b</u>	CH ₃	F	154-157	27	--	--	--	--	--	--	30	1	1	3	3	2
<u>14c</u>	CH ₃	Cl	167-169	32	300	300	300	300	300	300	-	-	-	-	-	-
<u>14d</u>	CH ₃	Br	183-186	28	--	--	--	--	300	--	-	-	-	-	-	-
<u>14</u>	C ₂ H ₅	F	156-158	55	--	--	--	--	300	12.5	--	--	--	--	--	--
<u>14f</u>	C ₂ H ₅	Cl	136-138	15	300	300	--	--	--	--	--	-	-	-	-	-
<u>14g</u>	C ₂ H ₅	Br	155-157	5	--	--	--	--	--	300	-	-	-	-	-	-
<u>15a</u>	S	H	226-227	40	30	30	--	--	--	300	50	--	4	4	4	4
<u>15h</u>	OCO	H	237-238	70	--	300	--	--	--	--	12.5	--	--	--	--	--
<u>15c</u>	OCO	Cl	245-246	80	--	300	--	--	--	--	12.5	1	--	1	--	2
<u>15d</u>	OCH ₂	H	212-213	52	300	300	100	--	--	--	12.5	--	--	1	1	--
<u>15a</u>	SO ₂	H	254	40	--	300	--	--	--	--	-	-	-	-	-	-
<u>15f</u>	OSO ₂	H	146	40	30	30	30	--	300	300	12.5	1	2	2	4	3
<u>15g</u>	OSO ₂	CH ₃	205-207	70	--	--	--	--	--	--	-	-	-	-	-	-
<u>16a</u>	H	F	230-231	52	30	30	30	--	300	100	12.5	1	3	4	4	4
<u>16b</u>	H	Cl	216	40	100	30	300	--	--	100	50	1	4	4	4	4
<u>16c</u>	H	Br	212-213	30	100	30	--	300	--	300	12.5	0	1	3	4	4
<u>16d</u>	H	CH ₃	225-227	32	30	30	100	100	300	100	12.5	0	0	4	4	4
<u>16e</u>	CH ₃	H	208-	60	100	100	300	--	--	--	30	0	4	4	4	4

16f	CH ₃	F	210-204-207	91	100	30	--	300	300	300	30	3	4	4	4	4
16g	C ₂ H ₅	H	131-133	16	30	30	100	100	100	100	30	--	3	4	3	4
16h	C ₂ H ₅	F	150-157	18	30	100	--	--	100	100	30	0	0	2	3	3
17a	S	O	167	56	30	30	30	30	100	30	12.5	--	2	2	3	1
17b	NH	O	181-183	50	300	30	30	--	100	100	12.5	--	--	--	1	2
17c	S	S	171-172	62	100	100	100	100	--	100	12.5	--	1	2	1	1
17d	NH	S	172-173	40	300	--	30	30	100	100	12.5	--	--	--	1	--
18a	H	O	176-178	60	300	300	--	300	--	300	-	-	-	-	-	-
18b	CH ₃	O	160	83	30	30	100	100	100	100	12.5	1	4	2	2	1
18c	NHNH ₂	O	220	80	300	100	--	300	--	300	30	--	--	--	--	--
18d	CONH ₂	O	253	75	--	--	--	--	300	300	-	-	-	-	-	-
18e	H	S	146-148	80	100	100	--	300	--	300	30	1	--	--	--	--
Фенітоїн			-	-	30	30	--	--	100	100	-	-	-	-	-	-
Карбамазепін			-	-	30	100	100	300	100	300	-	-	-	-	-	-
Валпроат			-	-	--	--	300	--	--	--	-	-	-	-	-	-

^a Були введені дози 30, 100 і 300мг/кг. Цифри в таблиці показують мінімальну дозу, при введенні якої спостерігалась біоактивність у половини або більшої кількості мишей. Тварин перевіряли через 0.5 і 4 годин після зробленої ін'єкції.

Лінії -- показують відсутність протисудомної активності і нейротоксичності.

^b Цифри в випробуванні показують кількість щурів із 4, які були захищені. Лінії -- показують, що активність не спостерігалась, і позначення - вказує, що сполука не випробовувалась.

Хоча спроби виділити 2-феноксипропіофенон, потрібний для синтезу сполуки 4 ($R^1=C_2H_5$; $R^2=H$), були невдалі, реакції незмінно вели до утворення ряду сполук, і ці сполуки синтезували, як наведено нижче. Проміжні альдегіди і кетони піддавали реакції з семікарбазидом (13-16), тіосемікарбазидом (17a,c), аміноаунідином (17b,d), гідразидом мурашиної кислоти (18a,e), оцтовим гідразидом (18b), карбогідразидом (18c) або оксаміновим гідразидом (18d).

Первісна оцінка протисудомних властивостей сполук 13-18 проводилась таким чином. Дози 30, 100 і 300г/кг вводили шляхом внутрішньочеревних ін'єкції мишам і оцінювали в випробуваннях МЕВ, пвПТЗ і нейротоксичності через півгодини та через чотири години після введення. Результати наведені в Таблиці 4 на додаток до даних для сполуки 12a-e, які наведені для порівняння.

Вибрані сполуки піддали кількісній оцінці, і ці результати показані в Таблиці 5.

Таблиця 5

Кількісна оцінка активності відібраних сполук в випробуваннях МЕВ, пвПТЗ і нейротоксичності після внутрішньочеревних ін'єкцій мишам

Сполука	Випробування МЕВ			Випробування пвПТЗ			Випробування нейротоксичності			IЗ ^a	
	t	ED ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	t	ED ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	t	TD ₅₀ (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	МЕВ	пвПТЗ
	г		г	г		г	г				
12a	1	12.86 (10.54-17.09)	8.28 (3.00)	1	>54 -	-	1	108.03 (71.52-157.52)	3.69 (0.96)	8.40	-
13a	0.25	9.08 (6.45-11.31)	6.21 (1.91)	0.25	43.31 (18.36-12.07)	1.54 (0.57)	1	73.48 (64.3-86.40)	10.51 (3.08)	8.09	1.70
13b	1	11.63 (10.96-12.48)	22.69 (9.34)	0.25	>80 -	-	2	60.74 (58.92-63.84)	45.21 (14.45)	5.22	-
13f	1	5.46 (4.57-6.46)	11.64 (3.74)	2	12.84 (8.25-18.55)	3.34 (1.16)	2	35.26 (25.02-43.44)	6.78 (2.05)	6.45	2.75
13g	4	11.09 (10.367-.583)	20.278 (6.827)					<100		<9.0	
15a	1	15.62 (10.45-20.56)	4.50 (1.36)	1	>46 -	-	2	181.00 (122.53-250.73)	4.59 (1.27)	11.59	-

15f	0.5	25.27 (21.50-29.87)	9.52 (3.00)	0.5	>100 -	-	1	113.00 (103.02-122.68)	17.38 (5.73)	4.47	-
16a	1	12.37 (9.247-16.128)	6.372 (1.915)	1	>120	-	2 2	88.00 (83.311-94.847)	24.001 (6.853)	7.112	<0.733
16b	1	16.22 (14.63-17.59)	23.21 (8.59)	1	>120 -	-	2	53.18 (41.42-72.54)	5.90 (1.89)	3.28	-
16c	2	24.37 (18.45-30.93)	5.92 (1.72)	2	>200 -	-		122.57 (101.63-149.51)	6.92 (2.10)	5.03	
16d	1	9.46 (6.353-3.026)	3.676 (0.986)	1	>300	-	4	196.52 (174.429-26.477)	12.821 (3.957)	20.776	<0.655
Фенітоїн	2	6.48 (5.66-7.24)	12.4 (3.60)	2	>50 -	-	0.5	42.8 (36.4-47.5)	10.2 (3.13)	6.60	
Карбамазепін	0.25	9.85 (8.77-10.7)	20.8 (7.15)	0.25	>50 -	-	0.25	47.8 (39.2-59.2)	7.98 (2.37)	4.85	-
Валпроат	0.25	287 (237-359)	7.31 (2.48)	0.25	209 (176-249)	8.51 (2.69)	0.25	483 (412-571)	12.3 (4.01)	1.68	2.31

Індекс захисту ІЗ отримують діленням величини TD_{50} на величину ED_{50} .

Були проведені оцінки більшості семікарбазонів і аналогів в випробуваннях МЕВ і нейротоксичності після орального введення щурам. При дозах, наведених в Таблиці 4, нейротоксичність була відсутня і деякі перевірені сполуки в випробуванні пвПТЗ були неактивні або надавали тільки мінімальний захист. Таким чином, в Таблиці 4 наведені тільки МЕВ дані. Величини ED_{50} декількох сполук в випробуванні МЕВ при оральному введенні щурам подані в Таблиці 6.

Таблиця 6

Кількісна оцінка відібраних сполук в випробуваннях
МЕВ і нейротоксичності після орального шляху введення щурам

Сполука	Випробування МЕВ			Випробування нейротоксичності			ІЗ ^a
	t г	ED_{50} (мг/кг) (95% CI)	Відхилення (SE)	t г	ED_{50} (мг/кг) (95 % CI)	Відхилення (SE)	
<u>12a^b</u>	2	1.59 (1.01-2.25)	3.17 (0.84)	$1/4-24^c$	>500	-	>315
<u>13a</u>	4	9.73 (6.440-14.141)	3.844 (1.300)	-	-	-	-
<u>13b</u>	2	3.37 (2.37-4.72)	5.74 (1.80)	2	108.77 (80.26-177.74)	4.82 (1.82)	32.2
<u>13c</u>	4	2.92 (2.203-3.464)	5.774 (1.595)	4	<500		<170.73
<u>13d</u>	4	1.52 (0.989-2.300)	3.600 (1.024)	-	>500		>328.28
<u>13e</u>	0.5	23.08 (14.33-36.64)	3.14 (0.92)	-	-	-	-
<u>13f</u>	2	4.25 (2.89-5.97)	3.67 (1.04)	4	>72 (<240)		>16.9 (<56.436)
<u>13g</u>	2	2.89 (1.568-5.294)	2.035 (0.594)	0	>500	-	>172.81
<u>13h</u>	4	4.39 (2.67-5.833)	4.206 (1.279)				
<u>14b</u>	2	43.37 (25.078-66.343)	2.287 (0.569)				
<u>15a</u>	4	4.29 (3.20-5.24)	6.02 (2.00)	$1/4-24$	>496	-	>115.6
<u>16a</u>	2	4.98 (3.24-7.01)	3.92 (1.10)	4	183.05 (100.59-338.35)	2.49 (0.86)	36.8
<u>16f</u>	2	9.11 (6.185-11.658)	5.285 (1.496)	-	-	-	-
<u>16g</u>	2	18.58 (14.195-25.038)	5.238 (1.674)	-	-	-	-
<u>18b</u>	0.5	18.66 (12.40-27.60)	3.93 (1.11)	2	>125	-	>6.70
Фенітоїн	2	23.2	15.1	$1/4-24^c$	>500	-	>21.6

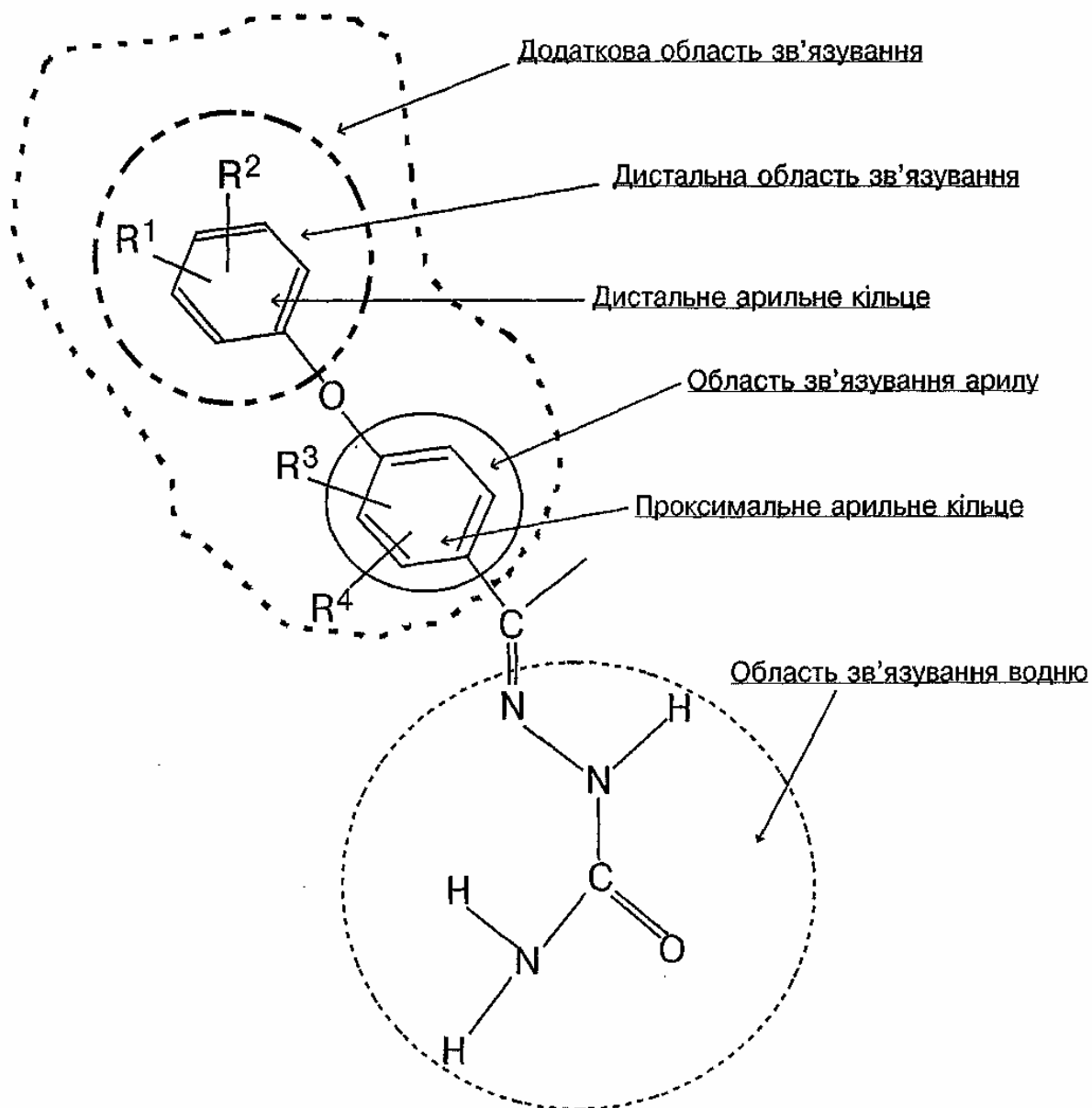
		(21.4-25.4)	(4.28)		-	-	
Карба-	1	3.57	3.84	1	361	11.4	101
мазепін		(2.41-4.72)	(1.15)		(319-402)	(2.96)	
Валпроат	0.5	395	8.13	0.5	859	6.57	2.17
		(332-441)	(2.76)		(719-1148)	(2.17)	

^a ІЗ позначає індекс захисту, а саме TD_{50}/ED_{50} .

^b Дані для цієї сполуки взяли із посилання 1

^c Сполука перевірялась через 0.25, 0.5, 1, 3, 4, 6, 8 і 24 години після введення.

Остаточну фармакологічну оцінку представлених сполук проводили, використовуючи модель спричиненої епілепсії.⁶ В цьому випадку було показано, що судомам, спричиненим переривистою світовою стимуляцією, запобігає на рівні крові ряд антиконвульсантів таким же чином, як це відбувається у людей. З метою визначення, що саме - кисень або сірка - є кращим атомом-спейсером між двома арильними кільцями, а також для порівняння величин ED_{50} з величинами, отриманими в оральних випробуваннях у щурів і внутрішньочеревних випробуваннях у мишей, було перевірено дві серії сполук. Величини ED_{50} ефірів 12a-d були 1.5, 2.5, 1.0 і 2.0мг/кг, відповідно, і для тіоефірів, які мають такі самі структури арильних замісників, а саме 12a, 15a, 16b,c, дорівнювали 1.5, 2.5, 1.0 і 1.5мг/кг, відповідно. Таким чином, на ефективність не впливає, кисень чи сірка використовуються як група-спейсер. Величини ED_{50} сполук 12a, 15a, 16a в оральному випробуванні у щурів знаходяться в діапазоні 1-5мг/кг, в той же час величини для сполук 12a, 15a, 16b, c при внутрішньочеревному випробуванні у мишей дорівнюють приблизно 15-25 мг/кг. Таким чином, результати, отримані у моделі спричиненої епілепсії є порівнюються з даними, що отримані при оральному випробуванні у щурів.



Фіг. 1

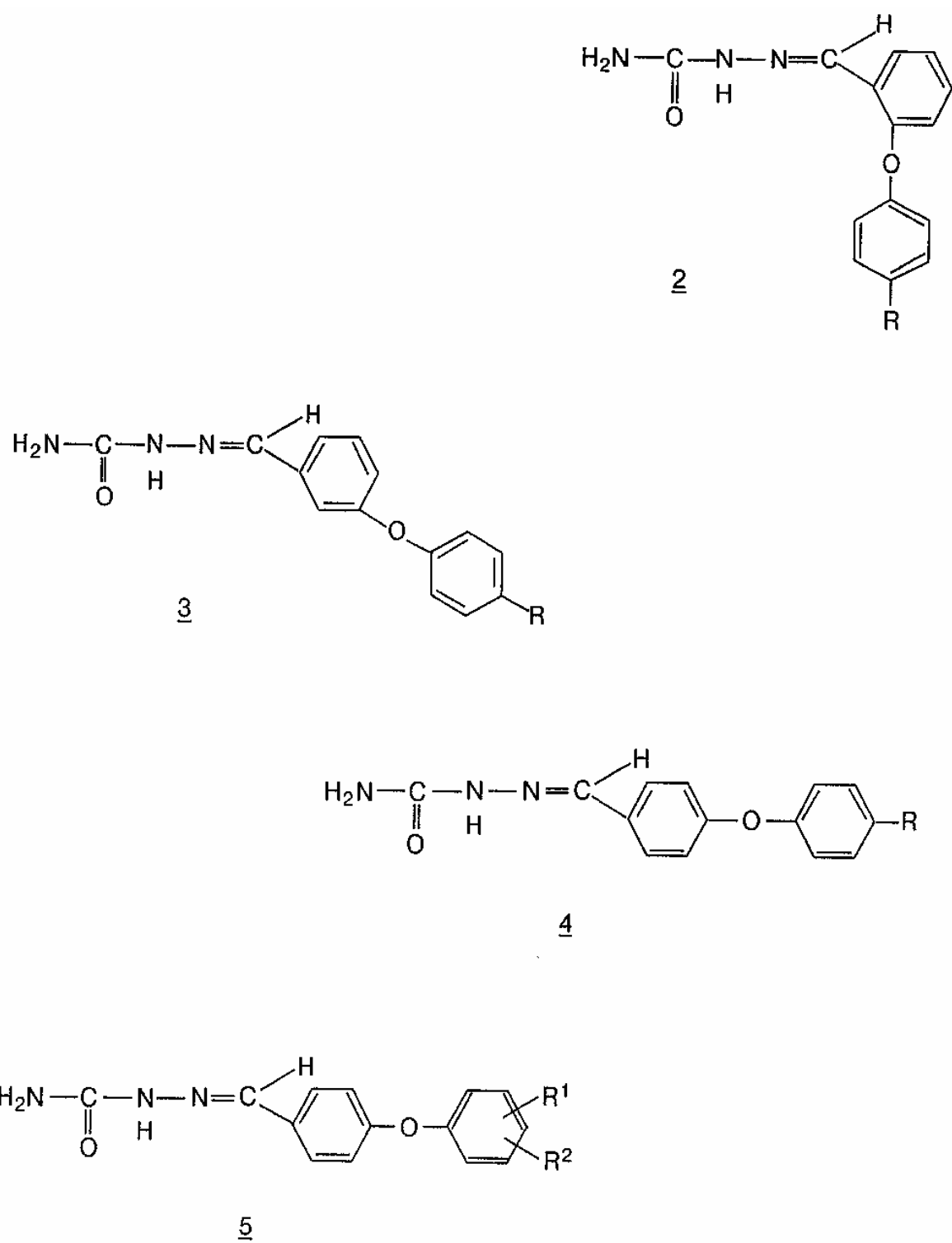
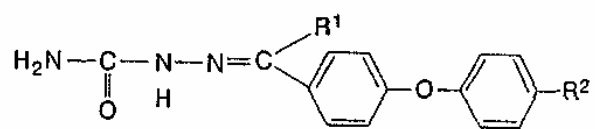
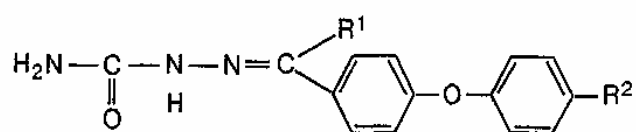


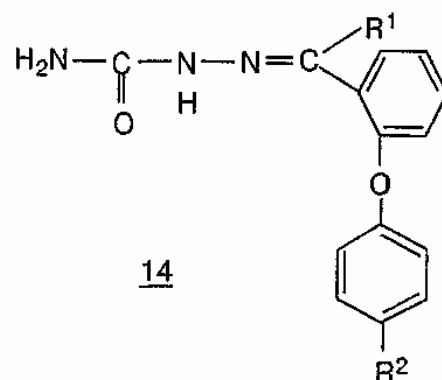
Fig. 2



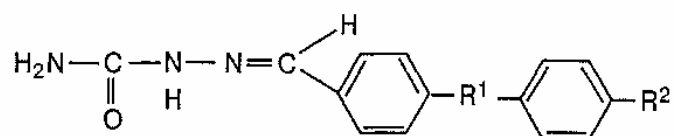
12



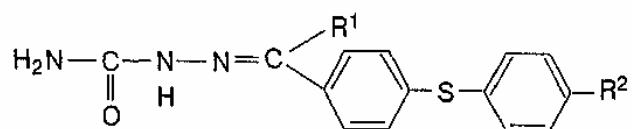
13



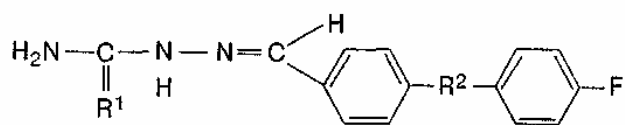
14



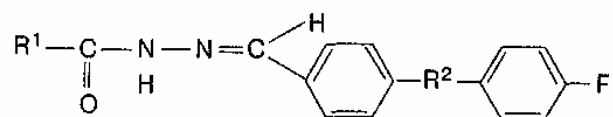
15



16



17



18

Фиг. 3