

УДК 547.599.3



Оценка психотропной активности новых структурных аналогов бромантана — *N*-(камфан-2-ил)анилинов — в тестах *in vivo*

А.А. Вернигора¹, Л.Л. Брунилина¹, А.В. Кажберов¹, Н.С. Болохов², А.А. Похлебин², А.А. Соколова², В.Э. Пустынников², И.Н. Тюреньков², И.А. Новаков¹, В.И. Краснов³, Д.Н. Половяненко³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный технический университет», Россия, 400005, г. Волгоград, пр. имени Ленина, д. 28

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 400066, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Новосибирский институт органической химии имени Н.Н. Ворожцова» Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, 630090, г. Новосибирск, пр-кт им. Академика Лаврентьева, д. 9

E-mail: nikita.bolokhov@volgmed.ru

Получена 21.10.2024

После рецензирования 29.11.2024

Принята к печати 15.12.2024

Цель. Синтез новых структурных аналогов бромантана — *N*-(камфан-2-ил)анилинов и изучение их психотропных свойств.

Материалы и методы. Синтезированные соединения идентифицировали с применением ЯМР-спектроскопии. Чистота соединений подтверждалась ГЖХ-МС анализом. Психотропные свойства *N*-(камфан-2-ил)анилинов изучены в экспериментах на крысах линии Wistar в возрасте 18–20 нед., мышах (12 нед.), полученных из питомника «Столбовая» с использованием тестов: «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Тест Распознавание нового объекта», «Питьевой конфликтный тест Фогеля», «Подвешивание мышей за хвост», «Удержание на канатике», «Тест экстраполяционного избавления».

Результаты. Был получен ряд новых ароматических аминов камфоры — структурных аналогов бромантана, и в ходе биологических исследований *in vivo* оценено их психотропное действие. По итогам исследований удалось выделить соединение-лидер, а именно (1*R*,2*R*,4*R*)-1,7,7-триметил-*N*-(4-этилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4е), которое оказывало выраженное анксиолитическое действие. Вещество 4е в тестах «Распознавание нового объекта» и в «Тесте экстраполяционного избавления» проявило когнитивные свойства, что было установлено по показателям времени изучения нового объекта и по времени подныривания.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о перспективности поиска веществ с психотропным действием в ряду ароматических аминов камфоры. Отдельно стоит выделить вещество 4е, которое заслуживает углублённого изучения спектра и механизма его психотропного действия.

Ключевые слова: бромантан; ариламины монотерпеноидных кетонов; камфора; анксиолитическое действие; антидепрессивное действие; когнитивное действие

Список сокращений: ЯМР — ядерный магнитный резонанс; ГЖХ-МС — газовая хромато-масс-спектрометрия; ТСХ — тонкослойная хроматография; ОП — тест «Открытое поле»; ПКЛ — тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»; РНО — тест «Распознавание нового объекта»; ТЭИ — тест экстраполяционного избавления; ПМХ — тест «Подвешивание мышей за хвост».

Для цитирования: А.А. Вернигора, Л.Л. Брунилина, А.В. Кажберов, Н.С. Болохов, А.А. Похлебин, А.А. Соколова, В.Э. Пустынников, И.Н. Тюреньков, В.И. Краснов, Д.Н. Половяненко. Оценка психотропной активности новых структурных аналогов бромантана — *N*-(камфан-2-ил)анилинов — в тестах *in vivo*. *Фармация и фармакология*. 2024;12(4):295-308. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-4-295-308

© А.А. Вернигора, Л.Л. Брунилина, А.В. Кажберов, Н.С. Болохов, А.А. Похлебин, А.А. Соколова, В.Э. Пустынников, И.Н. Тюреньков, И.А. Новаков, В.И. Краснов, Д.Н. Половяненко, 2024

For citation: A.A. Vernigora, L.L. Brunilina, A.V. Kazhberov, N.S. Bolokhov, A.A. Pokhlebin, A.A. Sokolova, V.E. Pustynnikov, I.N. Tyurenkov, I.A. Novakov, V.I. Krasnov, D.N. Polovyanenko. Psychotropic activity evaluation of bromantane — *N*-(camphan-2-yl)anilines new structural analogues in *in vivo* tests. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(4):295-308. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-4-295-308

Psychotropic activity evaluation of bromantane — N-(camphan-2-yl)anilines new structural analogues in *in vivo* tests

A.A. Vernigora¹, L.L. Brunilina¹, A.V. Kazhberov¹, N.S. Bolokhov², A.A. Pokhlebin², A.A. Sokolova²,
V.E. Pustynnikov², I.N. Tyurenkov², I.A. Novakov¹, V.I. Krasnov³, D.N. Polovyanenko³

¹ Volgograd State Technical University,
28, Lenin Ave., Volgograd, Russia, 400005

² Volgograd State Medical University,
1, Pashykh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400066

³ Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry,
9, Academician Lavrentiev Ave., Novosibirsk, Russia, 630090

E-mail: nikita.bolokhov@volgmed.ru

Received 21 Oct 2024

After peer review 29 Nov 2024

Accepted 15 Dec 2024

The aim of the work was the synthesis of bromantane - N-(camphan-2-yl)anilines new structural analogues and the study of their psychotropic properties.

Materials and methods. The synthesized compounds were identified using the NMR spectroscopy. The purity of the compounds was confirmed by a GC-MS analysis. Psychotropic properties of N-(camphan-2-yl)anilines were studied in the experiments on the Wistar rats aged 18-20 weeks, the mice (12 weeks old) obtained from the "Stolbovaya" nursery using the following tests: the "Open Field", the "Elevated Plus Maze", the "Novel Object Recognition", the "Vogel Conflict", the "Tail Suspension", the "Tightrope suspension", the "Extrapolation" test.

Results. A series of new camphor aromatic amines, structural analogues of bromantane, were obtained and their psychotropic effects were evaluated by *in vivo* biological studies. Based on the results, it was possible to identify a leader compound, i.e. (1R,2R,4R)-1,7,7-trimethyl-N-(4-ethylphenyl)bicyclo[2.2.1]heptan-2-amine (4e), which had a pronounced anxiolytic effect. Substance 4f showed cognitive properties in the "Novel Object Recognition" and the "Extrapolation" tests. The fact was established by the indices of the time of learning a novel object and the time of diving.

Conclusion. The obtained data testify to the prospect of searching for substances with a psychotropic action in the range of aromatic camphor amines. Substance 4f, which deserves an in-depth study of the spectrum and mechanism of its psychotropic action, should be singled out separately.

Keywords: bromantane; arylamines of monoterpenoid ketones; camphor; anxiolytic action; antidepressant action; cognitive action

Abbreviations: NMR — nuclear magnetic resonance; GC-MS — gas chromatography-mass spectrometry; TLC — thin layer chromatography; OF — the "Open field" test; EPM — the "Elevated plus maze" test; NOR — the "Novel Object Recognition" test; EP — the "Extrapolation" test; TS — the "Tail suspension" test; TRS — "Tightrope suspension" test.

ВВЕДЕНИЕ

Высокий темп современной жизни, психоэмоциональные нагрузки, последствия перенесённых вирусных и соматических заболеваний являются причиной роста тревожных и депрессивных состояний, снижения качества жизни. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)¹ около половины населения в своей жизни в определённые промежутки времени испытывают чувства беспокойства и тревоги. Около 970 млн. человек во всём мире страдают от психических расстройств². Тревожные и депрессивные патологии являются наиболее часто встречающимся видом психических нарушений. По подсчётам в мире тревогой страдают более 300 млн. человек. С

тревожной и депрессией часто сопряжены сердечно-сосудистые, метаболические, респираторные и многие другие заболевания [1].

Поэтому поиск веществ, направленных на коррекцию психоэмоциональных (тревожно-депрессивных) состояний, является актуальной задачей для химиков-синтетиков и фармакологов [2–4], несмотря на наличие более 160 нейрорепрессивных препаратов, находящихся в обращении по данным базы DrugBank³. Но проблема эффективного и безопасного лечения больных с такими патологиями до сих пор не решена [5–7], поэтому поиск веществ с анксиолитическим, антифобическим и антидепрессивным действием продолжается [8–10].

В отечественной медицинской практике в течение достаточно длительного промежутка времени находит применение лекарственный препарат,

¹ Когда тревожное состояние требует особого внимания. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://rg.ru/2024/04/10/kogda-trevozhnoe-sostoianie-trebuuet-osobogo-vnimaniia.html>

² Около 4 млн россиян страдают психическими заболеваниями. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.interfax.ru/russia/945840>

³ DrugBank. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://go.drugbank.com/drugs>

производное адамантана — бромантан [11–13]. Он обладает широким спектром действия: повышает физическую и умственную работоспособность, оказывает противоастеническое действие, а также имеет анксиолитические и антидепрессивные эффекты [14–16]. В литературе также описаны, но широкого применения в клинике не нашли, родственные бромантану экспериментальные препараты — АДК-910 (хлордантан), АДК-918 [17]. В отличие от бромантана, указанные соединения по своей химической структуре относятся к амидам карбоновых кислот. В этой связи несколько отличается и спектр их фармакологического действия. Стоит отметить, что неизменным остаётся наличие в их структуре фрагмента адамантана.

Руководствуясь общей идеей создания биоизостерических структурных аналогов бромантана, были приняты во внимание различные варианты замены адамантанового фрагмента на другие углеводородные радикалы. В частности, применительно к некоторым противовирусным средствам — путём биоизостерической замены каркасного фрагмента адамантана на фрагмент норкамфана, была решена проблема гепатотоксичности функциональных производных адамантана и их способность вызывать синдром Рея [18]. Конкретным примером такого рода является переход от молекулы римантадина к молекуле дейтифорина [18] (Рис. 1).

На наш взгляд такой подход является оправданным и для направленной модификации молекулы бромантана. Из общего числа рассмотренных вариантов углеводородных радикалов наше внимание привлёк камфан. Камфан, как и адамантан, является десятиуглеродным карбоциклическим радикалом каркасного строения и содержит в своей структуре 3 метильных группы, которые подвергаются гидроксигированию в ходе микросомального окисления, что приводит к снижению уровня потенциальной гепатотоксичности полученных веществ. Вместе с тем, быстрое гидроксигирование и последующее конъюгирование может обеспечить более высокий уровень клиренса полученных веществ, по сравнению с бромантаном. Наконец, немаловажную роль играет доступность исходного соединения: камфора имеет природное происхождение и является компонентом эфирных масел [19]. Таким образом, объектами исследования данной работы стали новые структурные аналоги бромантана — *N*-(камфан-2-ил)анилины (см. Рис. 1).

ЦЕЛЬ. Синтез новых структурных аналогов бромантана — *N*-(камфан-2-ил)анилинов — и оценка их действия на психофизиологическое состояние животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методика получения и анализ

Для синтеза использовали реагенты фирмы «Alfa Aesar» (Великобритания) и растворители фирмы

«Компонент-Реактив» (Россия). Исходные анилы камфоры синтезировали, как описано ранее [20].

Целевые соединения были синтезированы из соответствующих анилов камфоры (6б, д-з) путём их восстановления комбинацией борогидрида натрия (NaBH_4) и гексагидрата хлорида никеля (II) ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) в 95%-ном этаноле по известной методике [21, 22] (Рис. 2).

К раствору исходного анила 6а-з (10 ммоль) в 30 мл 95%-ном спирте этиловом (EtOH) в один приём прибавляли 4,75 г (20 ммоль) $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, растворенный в 70 мл 95% EtOH. Полученную смесь перемешивали до образования прозрачного раствора, после чего охлаждали в бане из сухого льда и 95% EtOH до -40°C . К полученному раствору при перемешивании и поддержании температуры до -30°C в атмосфере аргона, в несколько приёмов прибавляли 3,78 г (100 ммоль) NaBH_4 . По окончании прибавления реакционную смесь перемешивали еще в течение 60 мин в тех же условиях, а затем оставляли на ночь при комнатной температуре. На следующий день полученную смесь обрабатывали 15 мл 3N водного раствора натрия гидроксида, фильтровали и отгоняли EtOH при пониженном давлении. Кубовый остаток извлекали диэтиловым эфиром (Et_2O), объединенные органические вытяжки сушили в среде безводного сульфата натрия (Na_2SO_4), фильтровали и упаривали. Оставшийся в кубе технический продукт очищали методом колоночной хроматографии с гравитационным изократическим элюированием смесью циклогексан : трет-бутилметилловый эфир (МТБЭ) (13:1 по объему) на силикагеле. Для получения аналитических образцов в качестве элюента использовали циклогексан.

Для идентификации полученных соединений применяли ЯМР-спектроскопию, газовую хромато-масс-спектрометрию, а также метод тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединений регистрировали на ЯМР-спектрометре AVANCE 600 (BRUKER, Германия) (рабочие частоты 600 и 150 МГц, соответственно) в дейтеробензоле (C_6D_6). Химические сдвиги ядер ^1H и ^{13}C приведены относительно Me_4Si или сигналов растворителя (C_6D_6 : δ_{H} 7.16 м.д., δ_{C} 128.0 м.д.). Двумерные спектры ЯМР (^1H – ^1H COSY, ^1H – ^1H NOESY, ^1H – ^{13}C HSQC и ^1H – ^{13}C HMBC) регистрировали с использованием методики Z-градиентных импульсов (время смешивания 700 мс). Сигналы в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C продуктов относили с помощью 2D-экспериментов ^1H – ^1H COSY, ^1H – ^1H NOESY, ^1H – ^{13}C HSQC и ^1H – ^{13}C HMBC.

Для ТСХ использовали пластинки Macherey-Nagel Alugram Xtra Sil G/UV₂₅₄ (Германия). Визуализацию пятен проводили в УФ-свете. Значения R_f веществ указаны для элюента (циклогексан : МТБЭ=13 : 1 об.).

ГХ-МС анализ выполняли на приборе Хроматэк-Кристалл 5000 (Россия) в условиях ионизации электронным ударом интенсивностью 70 эВ.

Стоит отметить, что восстановление 4-бром-*N*-[(1*R*,4*R*)-камфан-2-илиден]анилина в этих условиях ведет к образованию продукта 4а вследствие гидрогенолиза связи C–Br [21]. Именно поэтому в данной работе отсутствует исследование психотропной активности продукта, наиболее близкого по своей структуре к бромантану.

Исследования *in vivo*

Все исследования биологической активности выполняли в соответствии с требованиями действующего руководства и в соответствии со ст. 11 ФЗ 61 от 12.04.2010 г. и согласно требованиям ЕАЭС.

Исследование психотропной активности выполнено на 69 крысах-самцах линии Wistar возрастом 20–22 нед., массой 300–350 г и на 18 мышах 12 нед. массой 24–28 г. Лабораторные животные получены из специализированного питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область, Чеховский район, р. п. Столбовая). Условия содержания лабораторных животных соответствовали всем требованиям лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33044–2014; Межгосударственный стандарт Принципы надлежащей лабораторной практики и в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 № 51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

После поступления животных в виварий Научного центра инновационных лекарственных средств Волгоградского государственного медицинского университета они проходили 14-дневный карантин. Животные имели свободный доступ к пище (гранулированный корм ГОСТ Р 51849–2001, ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия) и воде (ГОСТ «Вода питьевая» 2874–82 и СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения»). Крысы содержались в пластиковых клетках (545×395×200 мм, Тип: Т/4В, ООО «МЭСТ», г. Москва), при температурном режиме 20–22°C, относительной влажности 40–60%. В качестве подстила использовались мягкие древесные стружки. Световой режим составлял 12 ч света и 12 ч темноты. Соединения тестировались на животных в эквивалентных дозах, взятых пропорционально молекулярной массе вещества: 1/100, 1/30 и 1/10 от молекулярной массы (табл. 1).

Этическая экспертиза

Исследование одобрено Локальным этическим комитетом федерального государственного

бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 [OHRP]). Протокол заседания комиссии № 88 от 06.10.2023 г.

Оценка психофизиологического состояния животных

Для оценки психофизиологического состояния животных использовали тесты «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Распознавание нового объекта» (РНО), «Тест экстраполяционного извлечения» (ТЭИ), «Питьевой конфликтный тест Фогеля», «Подвешивание мышей за хвост» (ПМХ) и «Подвешивание на горизонтальном верёвочном канате» (Канатик).

Животные (крысы) были разделены на 22 группы по 3 особи в каждой, за исключением контрольной группы, в которой их было 6. При изучении анксиолитической активности в качестве референтного препарата использовали диазепам, широко применяемый в клинической практике. Флуоксетин использовался как препарат сравнения при изучении антидепрессивных свойств. Фенотропил был выбран в качестве препарата сравнения в исследовании физической выносливости и когнитивной функции. Исследуемые вещества вводились в двух эквимоларных дозах 1/10 и 1/30 от молекулярной массы (М.м.), а вещества, проявившие психотропную активность, изучались в дозе 1/100 от М.м. Животные контрольной группы получали 0,9% раствор натрия хлорида (NaCl). Мыши были разделены на 3 группы по 6 особей в каждой для проведения теста ПМХ.

Двигательную и исследовательскую активность животных оценивали в тесте ОП. Установка для теста «Открытое поле» для крыс представляет собой круглую площадку диаметром 97 см, ограниченную бортами высотой 40 см и разделённую разметкой на 25 равных секторов, на пересечении которых находятся 16 отверстий (диаметром 2 см). Установка освещается равномерным светом (400 люкс). Для очистки установки и снижения влияния на поведение посторонних запахов (вследствие пребывания предыдущего животного) перед каждым тестированием установка протирается последовательно салфеткой, смоченной водой, после этого, салфеткой, смоченной 5% раствором спирта и сухой ветошью. Следующее животное тестируется после полного высыхания поверхности установки.

После помещения тестируемого животного в центр установки в течение 3-х минут регистрировали следующие показатели: количество пересеченных квадратов (спонтанная двигательная

активность), суммарное количество стоек и обследованных отверстий-норок (ориентировочно-исследовательская активность), а также количество пересечений центральных квадратов установки [23].

Для оценки анксиолитической активности исследуемых соединений используется тест **«Приподнятый крестообразный лабиринт»**, который позволяет оценить уровень тревожности животных.

Установка ПКЛ состоит из крестообразно расходящихся от центральной площадки (10×10 см) под прямым углом 4-х рукавов размерами 50×14 см каждый: два противоположных, открытых, без стенок (высота бортика 1 см) и два закрытых, темных, огороженных по бокам стенками высотой 30 см. Крестообразная арена лабиринта устанавливается на тележку со стопорами, обеспечивающую подъем арены на высоту 55 см. Установка освещается равномерным светом (400 люкс). Перед посадкой следующего животного установка обрабатывалась так же, как обрабатывалось ОП.

При посадке животных на центральную, ярко освещенную, приподнятую площадку мы создаём для них аверсивную среду, из которой они стремятся перейти в более комфортный закрытый рукав. После ознакомления с закрытым рукавом, которых для них опасности не несёт, срабатывает рефлекс любопытства и оценки возможной опасности в других зонах крестообразного лабиринта.

Тестируемое животное помещается на центральную площадку ПКЛ головой к открытому рукаву и в течение 3-х минут регистрируются параметры поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий): латентный период выхода с центральной площадки в какой-либо рукав, количество заходов и время пребывания в открытых рукавах — потенциально стрессогенную зону установки, частота заходов и время пребывания животных в закрытых рукавах, сумма переходов между рукавами установки. Время выхода с центральной площадки (латентный период) может трактоваться как показатель скорости принятия решения, помимо этого центральная зона ПКЛ так же является освещенным пространством, и время нахождения в ней суммируется со временем в открытых рукавах [24].

Когнитивную функцию оценивали с помощью теста **«Распознавание нового объекта»** («Спонтанное распознавание нового объекта»). Тест построен на новизне и любопытстве животных и состоит из двух сессий: обучение и воспроизведение. В сессии обучения в домашнюю клетку без верхней сетки помещают два одинаковых предмета на расстоянии в 10 см друг от друга и 10 см от каждой из стенок ящика, и животное исследует ящик и предметы, в нем находящиеся, в течение 3 мин.

При этом регистрируется время, связанное с исследованием каждого предмета. После обучения животные помещаются в домашние клетки. В сессии воспроизведения через 1 час после обучения животных повторно помещали в домашнюю клетку без верхней сетки, но один из предметов заменяли новым. Предметы отличаются формой, цветом и текстурой, но примерно одного размера. Посаженное в клетку животное свободно исследует предметы и окружающую среду в течение 3-х минут. Животное считает новый объект интереснее старого, памятный след о котором позволяет уделять новому объекту (предпочтение новизны) больше внимания. Время, проведенное на исследование каждого предмета, фиксируется. После каждого теста ящик обрабатывается 5% раствором спирта. Время исследования объектов представлено в секундах. Тест РНО отражает состояние эпизодической памяти [25].

Для оценки когнитивных функций в стрессовых условиях использовали **«Тест экстраполяционного избавления»**. Установка для ТЭИ представляет собой цилиндрическую емкость (высота 40 см, диаметр 35 см), в которую до определенного уровня наливается вода температурой 18–19°C. В центре емкости вертикально закреплен цилиндр, нижняя часть которого опущена в воду на 2,5 см. Тест проводится в 3 этапа: обучение, первое воспроизведение и второе воспроизведение. На этапе «обучения» животное помещается хвостом вниз во внутренний цилиндр и в течение 3-х минут оно должно решить задачу: поднырнуть под край цилиндра, после чего оно извлекается из установки. Спустя 24 ч, при первом воспроизведении исключаются животные, которые не смогли в течение 3-х мин решить «экстраполяционную задачу». «Воспроизведение № 2» проводится через 24 ч после первого воспроизведения, то есть через 48 ч после обучения.

В тесте ТЭИ фиксируются следующие показатели: латентный период (ЛП) подныривания, время иммобилизации, число прыжков (стремительных движений телом вверх). Более короткое время, затраченное на решение задачи ТЭИ животных одной группы, получавших исследуемое вещество, по сравнению с животными контрольной группы, расценивается, как лучшее запоминание и выполнение стратегии избавления от аверсивной среды. Повышение латентного периода подныривания, трактуется как потеря (забывание) животным навыка активного избавления от аверсивной среды.

Наличие миорелаксирующего действия оценивали по результатам теста «Удержание тела на горизонтальном веревочном канате». Для проведения теста нейлоновый веревочный канат диаметром 0,5 см располагали горизонтально на высоте 95 см от поддона клетки, заполненной на 5 см слоем стружки.

Передние лапы животного помещают на канат и отпускают задние конечности. Фиксируется время удержания крысы на веревочном канате. Для каждой крысы проводили 3 повторные посадки с разрывом в 10 сек. Длительность удержания суммировалась. Большее время удержания на канатике в сравнении с таковой у животных контрольной расценивается как повышение силы и отсутствие миорелаксирующего действия, и наоборот меньшее время удержания на канатике свидетельствует о снижении силы и/или миорелаксирующем действии исследуемого вещества.

«Питьевой конфликтный тест Фогеля» основан на конфликте инстинкта утоления жажды и избегания наказания. Используется для определения анксиолитического действия исследуемых веществ. Животное лишается приема воды в течении 18 часов. Через 18 ч в камеру подают поилку, к которой подходят животные для взятия воды, но при этом получают слабый электрический удар. Регистрируется количество подходов животных контрольной группы, получавших за 60 мин до тестирования физиологический раствор или исследуемые вещества. Под влиянием веществ с анксиолитическим действием животные делают больше подходов к поилке для взятия воды.

Тест **«Подвешивание мышей за хвост»** – классический тест для определения антидепрессивного действия веществ. Установка для выполнения теста – прямоугольная камера высотой 46 см и шириной 30 см. При проведении теста животное липкой лентой подвешивали за 1/3 хвоста на высоте 10–15 см от земли. Продолжительность наблюдения составляет 6 минут. Оценивается продолжительность иммобилизации (поведение отчаянья, животное не совершает двигательных движений, просто свисает вниз) в секундах. Учитывается суммарная продолжительность иммобилизации на протяжении 6 мин тестирования. Если животное взбирается по хвосту, то оно исключается из эксперимента. При проведении теста использовали видео-фиксацию проведения тестирования, что дает возможность наблюдать за животным, находясь вне поля его зрения, а также возможность осуществлять дополнительный анализ поведения животного по видеозаписи.

Статистическая обработка результатов

Обработку и анализ результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2021 (Microsoft Corporation, США).

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики. Распределение количественных показателей оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка и Данна.

Цифровые значения представляли в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего. Отличия между показателями в группе считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика целевых продуктов

Структуры исследуемых соединений подтверждались методами ЯМР-спектроскопии, тонкослойной хроматографии и газовой хромато-масс-спектрометрии.

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-фенилбицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4a). Выход 80%, содержание целевого продукта по данным ГХ-МС 99.6%. Физико-химические данные и данные спектров ЯМР полученного образца соответствуют опубликованным ранее [21, 26].

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-(4-метилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4б). Выход 88%, содержание целевого продукта (по данным ГХ-МС) – 100%, диастереомерный состав (по данным ГХ-МС) – 99:1% (экзо-/эндо-). Масс-спектр (экзо-форма) (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 243 [M] (100), 172 (71), 133 (62), 120 (54), 107 (40), 95 (35), 91 (18). Масс-спектр (эндо-форма) (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 243 [M] (100), 172 (82), 133 (65), 120 (65), 107 (58), 95 (57), 91 (26). Спектр ЯМР ^1H (C_6D_6 , δ , м.д.): 0.73 (с, 3 Н, C(7)Me камфан), 0.82 (с, 3 Н, C(1)Me камфан), 0.91 (с, 3 Н, C(7)Me камфан), 0.99–1.04 (м, 1 Н, C(5)H_{эндо} камфан), 1.06–1.10 (м, 1 Н, C(6)H_{эндо} камфан), 1.42–1.47 (м, 1 Н, C(6)H_{экзо} камфан), 1.52–1.65 (м, 3 Н, C(3)H_{экзо}, C(4)H, C(5)H_{экзо} камфан), 1.68–1.71 (м, 1 Н, C(3)H_{эндо} камфан), 2.23 (с, 3 Н, C(4)_{Ar}CH₃), 3.16–3.19 (м, 1 Н, C(2)H_{эндо} камфан), 3.38 (с, 1 Н, NH), 6.47–6.49 (м, 2 Н, C(2)_{Ar}H, C(6)_{Ar}H), 6.99–7.01 (м, 2 Н, C(3)_{Ar}H, C(5)_{Ar}H). Спектр ЯМР ^{13}C (C_6D_6 , δ , м.д.): 12.67 (C(1)Me камфан), 20.89 (C(7)Me камфан), 20.97 (C(7)Me камфан), 20.98 (C(4)_{Ar}CH₃), 28.01 (C(5) камфан), 37.18 (C(6) камфан), 41.30 (C(3) камфан), 45.82 (C(4) камфан), 47.57 (C(1) камфан), 49.29 (C(7) камфан), 62.32 (C(2) камфан), 113.82 (C(2)_{Ar}, C(6)_{Ar}), 126.12 (C(4)_{Ar}), 130.33 (C(3)_{Ar}, C(5)_{Ar}), 146.84 (C(1)_{Ar}). $R_f=0,86$.

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-(2-этилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4в). Выход 70%, содержание целевого продукта по данным ГХ-МС 99.7%. Физико-химические данные и данные спектров ЯМР полученного образца соответствуют опубликованным ранее [21].

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-(4-метоксифенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4г). Выход 85%, содержание целевого продукта по данным ГХ-МС 99.5%. Физико-химические данные и данные спектров ЯМР полученного образца соответствуют опубликованным ранее [21].

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-(4-этоксифенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4д). Выход 83%, содержание целевого продукта (по данным ГХ-МС) – 100%, диастереомерный состав (по данным

ГХ-МС) — 100:0% (экзо-/эндо-). Масс-спектр (экзо-форма) (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 273 [М] (100), 202 (31), 163 (50), 150 (30), 137 (23), 95 (29). Спектр ЯМР ^1H (C_6D_6 , δ , м.д.): 0.74 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 0.84 (с, 3 Н, C(1)Ме камфан), 0.95 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 1.01–1.05 (м, 1 Н, C(5)Н_{эндо} камфан), 1.08–1.12 (м, 1 Н, C(6)Н_{эндо} камфан), 1.20 (т, 3 Н, C(4)_{Аг}ОСН₂СН₃, $J=7.0$ Гц), 1.44–1.49 (м, 1 Н, C(6)Н_{экзо} камфан), 1.56–1.66 (м, 3 Н, C(3)Н_{экзо} C(4)Н, C(5)Н_{экзо} камфан), 1.68–1.73 (м, 1 Н, C(3)Н_{эндо} камфан), 3.13–3.15 (м, 1 Н, C(2)Н_{эндо} камфан), 3.26 (с, 1 Н, NH), 3.37 (к, 2 Н, C(4)_{Аг}ОСН₂СН₃, $J=7.0$ Гц), 6.47–6.49 (м, 2 Н, C(2)_{Аг}Н, C(6)_{Аг}Н), 6.86–6.89 (м, 2 Н, C(3)_{Аг}Н, C(5)_{Аг}Н). Спектр ЯМР ^{13}C (C_6D_6 , δ , м.д.): 12.70 (C(1)Ме камфан), 15.55 (C(4)_{Аг}ОСН₂СН₃), 20.93 (C(7)Ме камфан), 20.99 (C(7)Ме камфан), 28.05 (C(5) камфан), 37.25 (C(6) камфан), 41.38 (C(3) камфан), 45.87 (C(4) камфан), 47.60 (C(1) камфан), 49.27 (C(7) камфан), 62.99 (C(2) камфан), 64.28 (C(4)_{Аг}ОСН₂СН₃), 114.81 (C(2)_{Аг}), 116.39 (C(3)_{Аг}), 122.16 (C(5)_{Аг}), 122.16 (C(5)_{Аг}), 139.12 (C(1)_{Аг}), 147.41 (C(2)_{Аг}). $R_f=0.82$.

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-(4-этилфенил) бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4е). Выход 78%, содержание целевого продукта (по данным ГХ-МС) — 99.1%, диастереомерный состав (по данным ГХ-МС) — 100:0% (экзо-/эндо-). Масс-спектр (экзо-форма) (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 243 [М] (100), 158 (87), 93 (76), 41 (30). Спектр ЯМР ^1H (C_6D_6 , δ , м.д.): 0.72 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 0.83 (с, 3 Н, C(1)Ме камфан), 0.91 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 0.99–1.03 (м, 1 Н, C(5)Н_{эндо} камфан), 1.06–1.11 (м, 1 Н, C(6)Н_{эндо} камфан), 1.20 (т, 3 Н, C(4)_{Аг}СН₂СН₃, $J=7.6$ Гц), 1.43–1.47 (м, 1 Н, C(6)Н_{экзо} камфан), 1.54–1.65 (м, 3 Н, C(3)Н_{экзо} C(4)Н, C(5)Н_{экзо} камфан), 1.69–1.72 (м, 1 Н, C(3)Н_{эндо} камфан), 2.55 (к, 2 Н, C(4)_{Аг}СН₂СН₃, $J=7.6$ Гц), 3.18–3.20 (м, 1 Н, C(2)Н_{эндо} камфан), 3.43 (шир. с, 1 Н, NH), 6.50–6.53 (м, 2 Н, C(2)_{Аг}Н, C(6)_{Аг}Н), 7.04–7.06 (м, 2 Н, C(3)_{Аг}Н, C(5)_{Аг}Н). Спектр ЯМР ^{13}C (C_6D_6 , δ , м.д.): 12.67 (C(1)Ме камфан), 16.88 (C(4)_{Аг}СН₂СН₃), 20.88 (C(7)Ме камфан), 20.96 (C(7)Ме камфан), 28.01 (C(5) камфан), 28.86 (C(4)_{Аг}СН₂СН₃), 37.19 (C(6) камфан), 41.35 (C(3) камфан), 45.83 (C(4) камфан), 47.59 (C(1) камфан), 49.28 (C(7) камфан), 62.37 (C(2) камфан), 113.86 (C(2)_{Аг}), 129.16 (C(3)_{Аг}), 133.04 (C(4)_{Аг}), 147.07 (C(1)_{Аг}). $R_f=0.87$.

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-(2-метоксифенил) бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4ж). Выход 72%, содержание целевого продукта (по данным ГХ-МС) — 100%, диастереомерный состав (по данным ГХ-МС) — 100:0% (экзо-/эндо-). Масс-спектр (экзо-форма) (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 259 [М] (100), 188 (89), 136 (83), 95 (70), 41 (20). Спектр ЯМР ^1H (C_6D_6 , δ , м.д.): 0.73 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 0.93 (с, 3 Н, C(1)Ме камфан), 1.03 (ддд, 1 Н, C(5)Н_{эндо} камфан, $J=12.5$, 9.4, 4.4 Гц), 1.05 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 1.11 (ддд, 1 Н, C(6)Н_{эндо} камфан, $J=12.5$, 9.4, 3.8 Гц), 1.47 (ддд, 1 Н, C(6)Н_{экзо} камфан, $J=12.5$, 11.6, 4.4 Гц), 1.58 (дд, 1 Н, C(4)Н камфан, $J=4.3$ Гц), 1.59–1.70 (м, 2 Н, C(3)Н_{экзо} C(5)Н_{экзо} камфан), 1.75 (дд, 1 Н, C(3)Н_{эндо}, $J=12.8$, 8.3 Гц),

3.25 (ддд, 1 Н, C(2)Н_{эндо} камфан, $J=8.3$, 6.1, 4.8 Гц), 3.34 (с, 3 Н, C(2)_{Аг}ОСН₃), 4.54 (д, 1 Н, NH $J=6.1$), 6.59 (дд, 1 Н, C(3)_{Аг}Н, $J=7.9$, 1.4 Гц), 6.70 (дд, 1 Н, C(6)_{Аг}Н, $J=7.9$, 1.4 Гц), 6.73 (ддд, 1 Н, C(4)_{Аг}Н, $J=7.9$, 7.5, 1.5 Гц), 7.01 (ддд, 1 Н, C(5)_{Аг}Н, $J=7.9$, 7.5, 1.5 Гц). Спектр ЯМР ^{13}C (C_6D_6 , δ , м.д.): 12.74 (C(1)Ме камфан), 20.95 (C(7)Ме камфан), 20.99 (C(7)Ме камфан), 28.05 (C(5) камфан), 37.21 (C(6) камфан), 41.52 (C(3) камфан), 45.92 (C(4) камфан), 47.64 (C(1) камфан), 49.40 (C(7) камфан), 55.46 (C(2)_{Аг}ОСН₃), 61.91 (C(2) камфан), 110.16 (C(3)_{Аг}), 110.68 (C(6)_{Аг}), 116.35 (C(4)_{Аг}), 122.16 (C(5)_{Аг}), 122.16 (C(5)_{Аг}), 139.12 (C(1)_{Аг}), 147.41 (C(2)_{Аг}). $R_f=0.82$.

(1R,2R,4R)-1,7,7-Триметил-N-(2,5-диметоксифенил) бицикло[2.2.1]гептан-2-амин (4з). Выход 64%, содержание целевого продукта (по данным ГХ-МС) — 99.8%, диастереомерный состав (по данным ГХ-МС) — 100:0% (экзо-/эндо-). Масс-спектр (экзо-форма) (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$ (%)): 289 [М] (100), 274 (23), 218 (36), 179 (31), 166 (33), 153 (29), 138 (23), 95 (50), 41 (21). Спектр ЯМР ^1H (C_6D_6 , δ , м.д.): 0.70 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 0.92 (с, 3 Н, C(1)Ме камфан), 0.94–0.98 (м, 1 Н, C(5)Н_{эндо} камфан), 1.02–1.07 (м, 1 Н, C(6)Н_{эндо} камфан), 1.03 (с, 3 Н, C(7)Ме камфан), 1.40–1.45 (м, 1 Н, C(6)Н_{экзо} камфан), 1.54–1.61 (м, 2 Н, C(4)Н камфан, C(5)Н_{экзо} камфан), 1.64–1.68 (м, 1 Н, C(3)Н_{экзо}), 1.73 (дд, 1 Н, C(3)Н_{эндо}, $J=12.9$, 8.3 Гц), 3.23 (ддд, 1 Н, C(2)Н_{эндо} камфан, $J=8.3$, 6.2, 4.7 Гц), 3.39 (с, 3 Н, C(2)_{Аг}ОСН₃), 3.53 (с, 3 Н, C(5)_{Аг}ОСН₃), 4.59 (д, 1 Н, NH $J=6.2$), 6.18 (дд, 1 Н, C(4)_{Аг}Н, $J=8.6$, 2.9 Гц), 6.55 (д, 1 Н, C(6)_{Аг}Н, $J=2.9$). Спектр ЯМР ^{13}C (C_6D_6 , δ , м.д.): 12.73 (C(1)Ме камфан), 20.90 (C(7)Ме камфан), 20.95 (C(7)Ме камфан), 27.96 (C(5) камфан), 37.12 (C(6) камфан), 41.35 (C(3) камфан), 45.89 (C(4) камфан), 47.61 (C(1) камфан), 49.38 (C(7) камфан), 55.49 (C(5)_{Аг}ОСН₃), 56.09 (C(2)_{Аг}ОСН₃), 61.82 (C(2) камфан), 98.50 (C(4)_{Аг}), 99.39 (C(6)_{Аг}), 110.55 (C(3)_{Аг}), 140.13 (C(1)_{Аг}), 142.27 (C(2)_{Аг}), 156.20 (C(5)_{Аг}). $R_f=0.65$.

Результаты исследований *in vivo*

В тесте ОП у животных, которым вводились вещества 4в и 4з, отмечалась более высокая (53,7±1,6 и 52,3±2,0 соответственно) в сравнении с контрольной группой (38,5±0,8) двигательная активность (количество пересечённых квадратов), они больше других находились в центральных квадратах установки. Более высокая исследовательская активность регистрировалась у животных, которым вводилось вещество 4з во всех дозах, а вещества 4в, 4г и 4д повышали исследовательскую активность только в низких (1\100 от М.м.) дозах (Рис. 3).

В тесте ПКЛ, то есть в условиях переменной стрессогенности, поведение животных, получавших соединения 4в и 4е особенно отличалось от контрольной группы (Рис. 4). Можно отметить снижение ЛП покидания центральной площадки у животных, получавших соединения 4в (1,3±0,3) и 4ж (1,7±0,7), что может указывать на быстрое

принятие решения и повышение исследовательской активности. Отмечается повышение частоты выхода в открытый рукав и время нахождения в открытом рукаве, особенно у соединения 4е (26 мг/кг; 130 ± 10). Животные, получавшие соединения 4в (9 мг/кг; 5 ± 1), 4е ($2,5 \pm 1,5$) во всех дозах, 4ж (9 и 26 мг/кг; $4,3 \pm 1,6$ и $3,5 \pm 0,9$), 4з (10 и 29 мг/кг; $4,5 \pm 2$ и $2,8 \pm 1,6$), реже переходили между рукавами, что также говорит о сниженной тревоге.

Регистрация переходов между рукавами, особенно выходы в открытые рукава и пребывание в них, позволяет судить об угнетающем (диазепам) или анксиолитическом, антифобическом действии (соединение 4е).

Все животные, кроме получавших диазепам и соединения 4е, быстро покидали центральную площадку. Предварительное введение исследуемых веществ не мешало в условиях переменной аверсивности быстро принимать решение покинуть центральную площадку. Животные под влиянием соединения 4е дольше других пребывали в открытых рукавах (130 ± 10), а животные, получавшие вещество 4в, многократно переходили из одного рукава в другой, не задерживаясь на открытых поверхностях ПКЛ. Под влиянием диазепама животные мало передвигались как в ОП, так и в ПКЛ, но выйдя на центральную площадку, либо после её пересечения, дольше оставались на открытой поверхности.

В тесте **Фогеля** оценивались анксиолитические свойства производного камфоры — соединения 4е ((1R,2R,4R)-1,7,7-триметил-N-(4-этилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин), которое оказывало наиболее выраженный анксиолитический эффект в тесте ПКЛ. Вещество увеличивало количество попыток наказуемых взятий воды в сравнении с животными, получившими за 60 мин до тестирования раствор NaCl (контрольная группа), но статистически значимо меньше референтного препарата диазепам (Рис. 5А).

Эти данные в совокупности с результатами, полученными в тестах ОП и ПКЛ, свидетельствуют об анксиолитических свойствах вещества 4е.

У лиц с тревожными расстройствами нередко отмечаются депрессивные расстройства. Поэтому в тесте ПМХ по длительности иммобилизации оценивали наличие (или отсутствие) антидепрессивных свойств у соединения 4е. В сравнении с контрольными животными, у мышей, получавших соединение 4е, время иммобилизации было статистически значимо меньше (Рис. 5Б).

Для веществ с анксиолитическим действием, подобным бензодиазепинам, характерны амнезирующие и миорелаксирующие действия [27, 28]. С этой целью было изучено когнитивное действие в тестах РНО и ТЭИ, а также в тесте подвешивания животных на канатике, тестировалось влияние вещества на физическую силу.

Исследование действия соединения 4е на внимание и краткосрочную память в тесте РНО показало, что животные контрольной группы на первом этапе тестирования изучали предметы больше (А1: $9,3 \pm 0,3$; А2: $7,7 \pm 1,8$) чем животные, получавшие соединение 4е (Рис. 5В). Однако через 1 час на втором этапе тестирования большинство животных, которым было введено соединение во всех трех дозах ($1/100$: $9 \pm 0,3$, $1/30$: $7,7 \pm 2,9$ и $1/10$: $7,5 \pm 2,5$ от молекулярной массы), больше изучали новый объект, что позволяет сделать вывод о том, что исследуемое соединение повышает внимание и кратковременную память животных (см. Рис. 5).

В тесте ТЭИ животные, получавшие соединение 4е в дозе 9 мг/кг, быстрее решали задачу экстраполяционного избавления на второй день ($3,3 \pm 2,3$), чем в первый ($13,3 \pm 10,8$), а также быстрее в сравнении с контрольной группой ($9,7 \pm 4,1$) (Рис. 5Д). В совокупности соединение в тестах РНО и ТЭИ свидетельствуют об улучшении когнитивной функции.

В ходе эксперимента по удержанию тела на веревочном горизонтальном канатике было установлено, что животные, получавшие соединение 4е в дозе 26 мг/кг, дольше удерживались на канатике ($89,7 \pm 14,3$), чем животные контрольной группы ($47,7 \pm 12,7$), что говорит об отсутствии миорелаксирующих свойств у данного вещества.

ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности строения камфоры — типичного представителя природного монотерпеноида, в сочетании с ее низкой токсичностью стали основанием для выбора данного соединения в качестве исходного материала для направленной структурной модификации с целью получения фармакологически активных монотерпеноидных ароматических аминов с низкой токсичностью.

Модификация осуществлялась через получение интермедиатов — замещённых анилов камфоры, путём восстановления которых были получены исследованные соединения. При этом известные способы синтеза анилов, предполагающие использование каталитических систем и конденсирующих агентов, приводят к получению трудно выделяемых и, зачастую, загрязненных продуктов, что снижает выход чистого вещества. Для решения данной проблемы был разработан оригинальный метод синтеза в присутствии полученного *in situ* каталитического комплекса, обеспечивающий технологичный подход к получению полупродуктов [29], при котором каталитическая система выполняет дополнительную функцию акцептора выделяющейся в процессе конденсации воды.

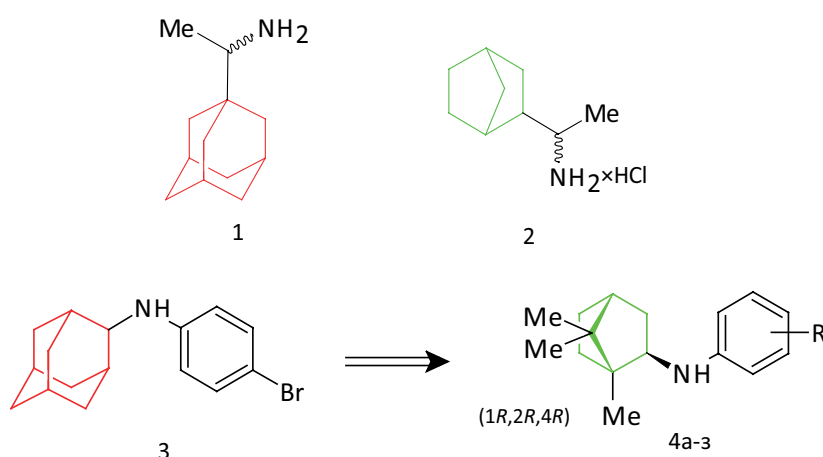


Рисунок 1 – Химическая структура римантадина (1), дейтифорина (2), бромантана (3) и исследуемых соединений (4 а–з — *N*-(камфан-2-ил)анилины)

Примечание: R=H (4а), 4-Me (4б), 2-Et (4в), 4-OMe (4г), 4-OEt (4д), 4-Et (4е), 2-OMe (4ж), 2,5-(OMe)₂ (4з).

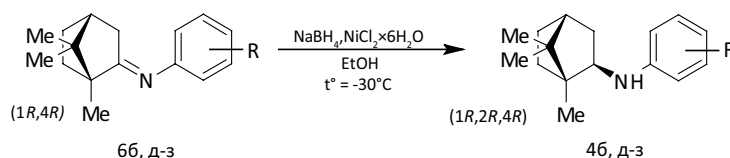


Рисунок 2 – Реакция образования целевых соединений

Примечание: 4б — 88%, 4д — 83%, 4е — 78%, 4ж — 72%, 4з — 64%.

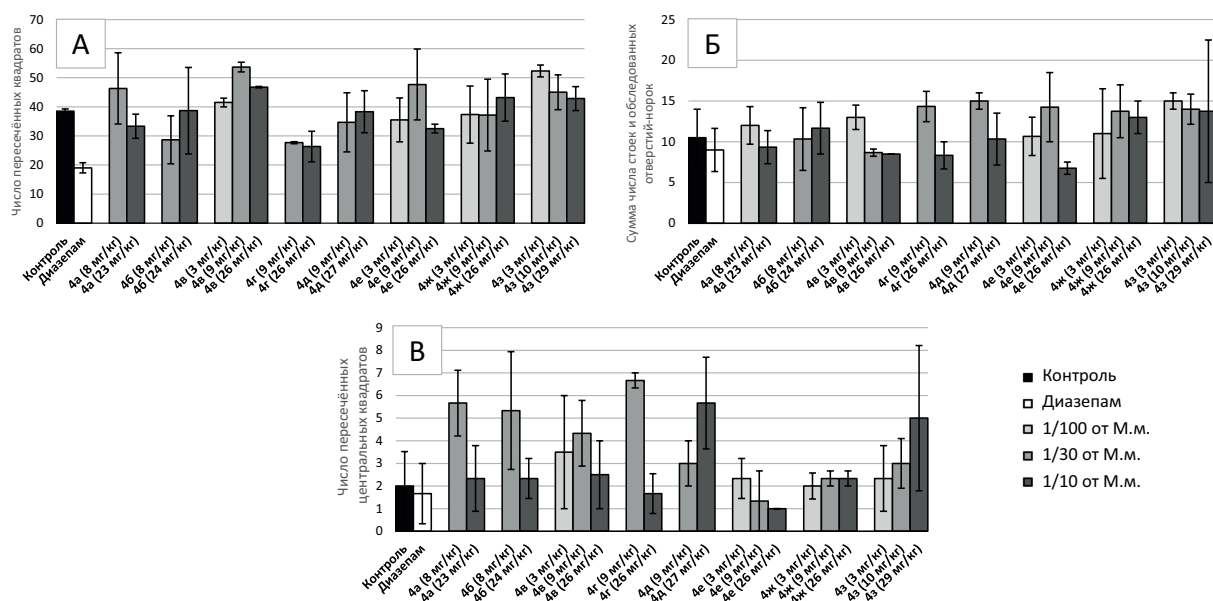


Рисунок 3 – Влияние исследуемых веществ на поведение животных в тесте «Открытое поле»

Примечание: А) количество пересечённых квадратов; Б) общая исследовательская активность (суммарное количество заглядываний в отверстия, стоек без опоры и стоек с опорой); В) количество пересечений центральных секторов. * — различия статистически значимы по сравнению с животными контрольной группы.

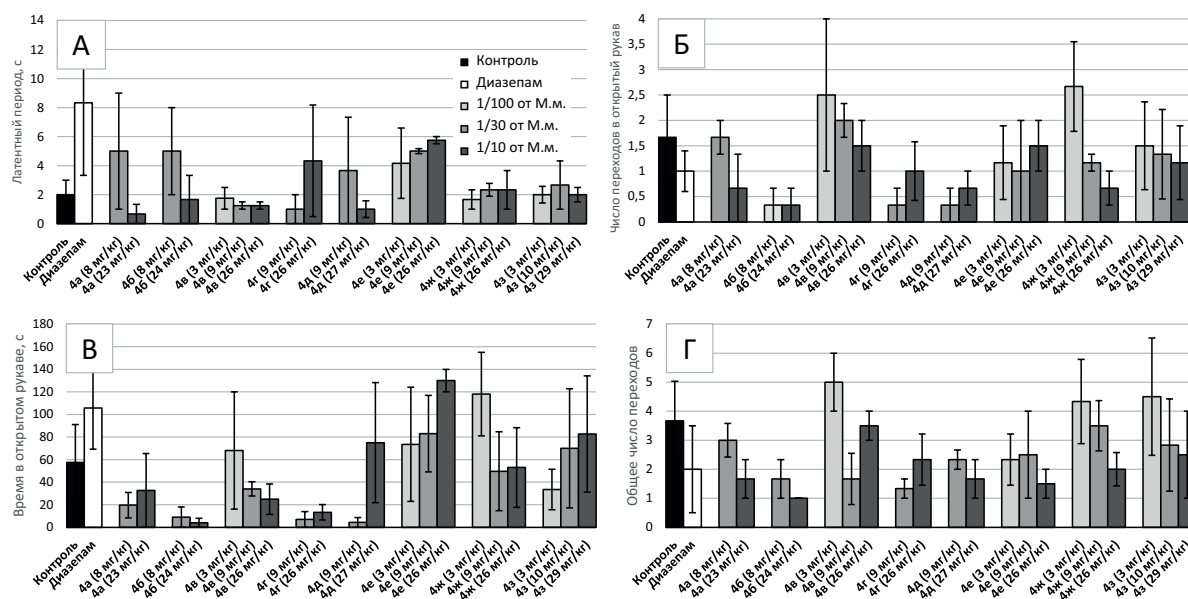


Рисунок 4 – Влияние исследуемых веществ на поведение животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Примечание: А) латентный период покидания центральной площадки; Б) частота выхода животного в открытый рукав установки; В) время пребывания животного в открытом рукаве установки; Г) общее количество переходов между рукавами установки (сумма переходов, заходов в открытый рукав и заходов в закрытый рукав).

* — различия статистически значимы по сравнению с животными контрольной группы.

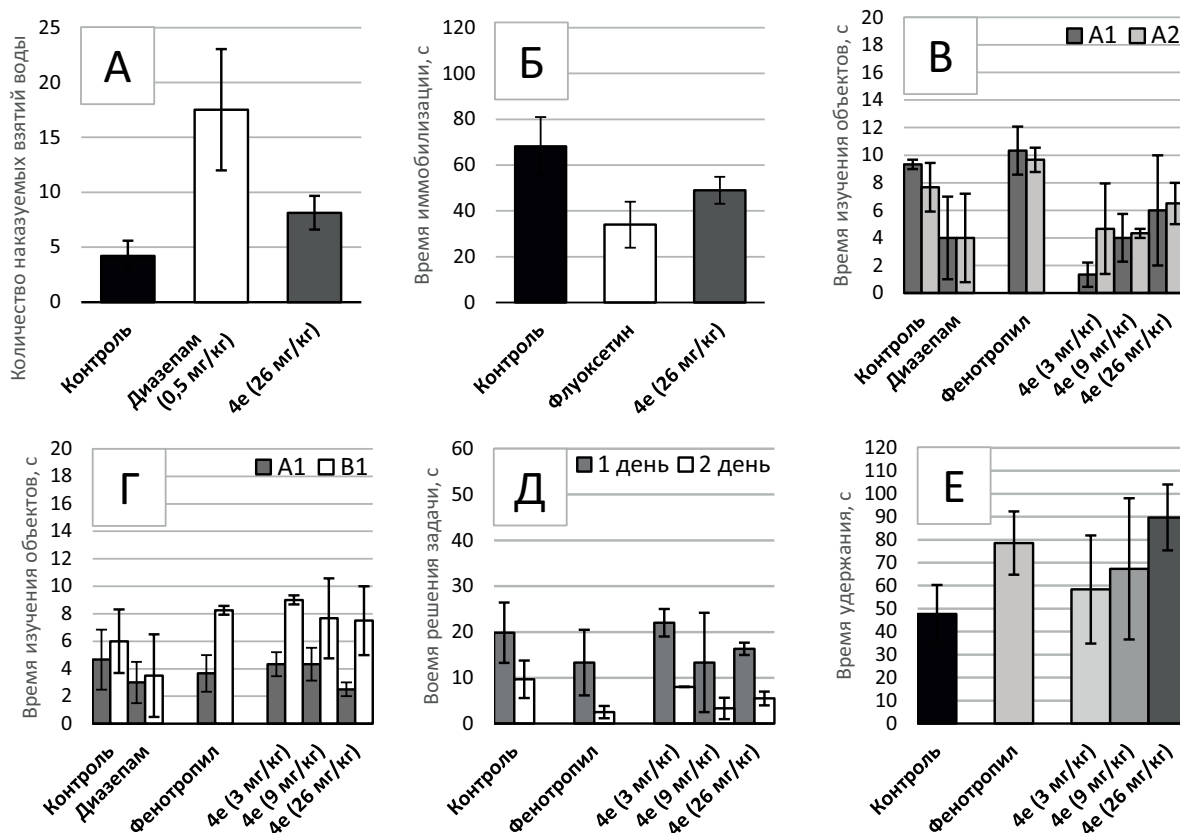
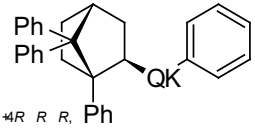
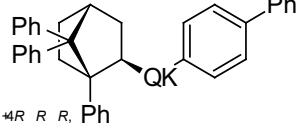
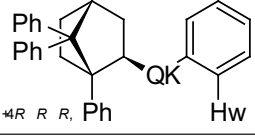
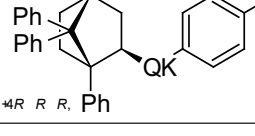
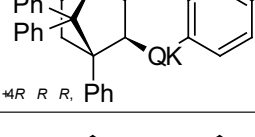
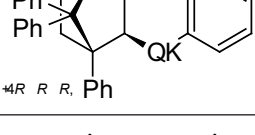
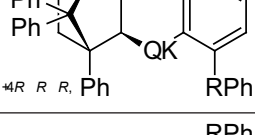
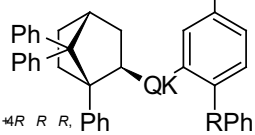


Рисунок 5 – Поведение животных в исследуемых тестах

Примечание: А) Питательный конфликтный тест Фогеля; Б) Тест «Подвешивание мышей за хвост»; В) Тест РНО этап обучения; Г) тест РНО этап воспроизведения; Д) Тест экстраполяционного извлечения; Е) Тест «Удержание на канатике». * — различия статистически значимы по сравнению с животными группы. # — различия статистически значимы по сравнению с временем изучения объекта А1 в тесте РНО и по сравнению с временем решения экстраполяционной задачи в 1 день в тесте экстраполяционного извлечения.

Таблица 1 – Полученные соединения, их название, структурная формула, молекулярная масса и дозы для исследования *in vivo*

№	Название	Структурная формула	Молекулярная масса, г/моль; эквиволярные дозы (мг/кг)
4а	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(фенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>229.36</u> 1/30 (8) 1/10 (23)
4б	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(4-метилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>243.39</u> 1/30 (8) 1/10 (24)
4в	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(2-этилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>257.41</u> 1/100 (3) 1/30 (8) 1/10 (24)
4г	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(4-метоксифенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>259.39</u> 1/30 (8) 1/10 (26)
4д	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(4-этоксифенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>273.42</u> 1/30 (9) 1/10 (27)
4е	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(4-этилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>257.41</u> 1/100 (3) 1/30 (9) 1/10 (26)
4ж	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(2-метоксифенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>259.39</u> 1/100 (3) 1/30 (9) 1/10 (26)
4з	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-1,7,7-триметил- <i>N</i> -(2,5-диметоксифенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин		<u>289.41</u> 1/100 (3) 1/30 (10) 1/10 (29)

В процессе восстановления полученных полупродуктов особое внимание было уделено правильному подбору гидрирующего агента и выявлению ограничений в отношении применения методики в части затрудняющих гидрирование стерических факторов. Конкуренция проявляется в виде активирующего действия донорных заместителей в ароматическом кольце в зависимости от их строения, количества и расположения относительно экзоциклического атома азота. Высокий выход целевых соединений сопровождался получением побочного продукта восстановления ароматического кольца, вследствие чего наиболее

эффективным методом выделения целевых соединений стал метод колоночной хроматографии. На активность соединений также повлияла природа и расположение заместителя в ароматическом кольце. Все исследованные ароматические амины камфоры, за исключением вещества 4а, содержали донорные заместители, представленные низшими алкильными и алкоксильными группами. При этом ожидаемая от алкоксизамещённых ароматических аминов высокая активность не оправдалась, а наиболее активными оказались замещённые производные 4в и 4е. В обоих случаях этильный заместитель, расположенный в положениях, обеспечивающих

согласованную ориентацию с экзоциклическим азотом, приводил к повышению активности веществ. Однако экранирующее действие этильного заместителя в орто-положении несколько снижало активность амина, тогда как пара-этилзамещенный продукт проявлял наибольшую активность.

По результатам изучения биологической активности следует выделить соединение 4е, которое в тесте ПКЛ (значительно большее время пребывания в открытых рукавах по сравнению с животными других групп, включая контрольную группу). В тесте Фогеля животные, получавшие это же вещество, делали больше подходов для наказуемого взятия воды, чем животные контрольной группы. В тесте подвешивания мышей за хвост у животных, которым вводилось вещество 4е, регистрировали меньший период иммобилизации, а в тесте ТЭИ — активное поведение и быстрое решение задачи избавления от аверсивной среды свидетельствует об антидепрессивном действии. Животные, получавшие соединение 4е, лучше обучались в тестах РНО и ТЭИ и, соответственно, в первом и втором тесте больше изучали новый предмет, и быстрее подныривали под нижний обрез цилиндра и избавлялись от аверсивной среды, что отражает хорошее внимание, кратковременную память и быстрое принятие правильного решения. В тесте «Удержание тела на горизонтальном веревочном канате» животные дольше удерживались в сравнении с животными контрольной группы, а в дозе 26 мг/кг и дольше чем животные, получавшие референтный препарат сравнения фенотропил.

Таким образом, выполненное исследование позволило в ряду производных камфана получить вещество 4е ((1R,2R,4R)-1,7,7-триметил-N-(4-этилфенил)бицикло[2.2.1]гептан-2-амин) с выраженным анксиолитическим, антидепрессантным и ноотропным действием и, возможно, повышающее физическую работоспособность. Соединение 4е является перспективным для дальнейшего углубленного изучения его психотропных свойств.

Ограничения исследования

Исследование проводилось на относительно небольшой группе животных, что может снижать статистическую мощность и затруднять выявление редких или слабых эффектов. Эксперимент охватывал ограниченный период времени, что не позволяло

оценить долгосрочные последствия применения веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в рамках предположения о схожести взаимодействия фармакофорных фрагментов с биологическими мишенями и потенциальной пользе в части снижения выраженности побочных эффектов, была предложена замена каркасной структуры адамантана на камфановый фрагмент и изучено действие синтезированных ароматических аминов камфоры на психофизиологическое состояние животных.

В тесте ОП соединения 4в с этильным заместителем во втором положении фенильного кольца и 4з, имеющее две метоксигруппы в фенильном кольце, повышали двигательную активность, а в тесте ПКЛ животные делали больше переходов между рукавами, что свидетельствовало об их психостимулирующем действии.

Соединение 4е в тесте ПКЛ повышало время пребывания в открытых рукавах, а в тесте Фогеля отмечалось большее количество попыток наказуемых взятий воды, чем у животных контрольной группы, но меньше животных, получавших препарат сравнения — диазепам. Вещество 4е незначительно уменьшало время иммобилизации в тестах ПМХ и ТЭИ в сравнении с контролем. При оценке влияния вещества на когнитивную функцию было отмечено увеличение времени исследования неизвестного предмета и уменьшение времени решения экстраполяционного избавления, что можно расценивать как улучшение когнитивной функции. В тесте подвешивания мышей на канатике отмечалось достоверно более продолжительное удержание животных.

Представленные данные свидетельствуют о том, что соединение 4е оказывало умеренное анксиолитическое действие, не оказывая при этом миорелаксирующего, амнезирующего и, одновременно, оказывая антидепрессивное действие. Представленные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего поиска в ряду производных камфана веществ с психотропными свойствами и целесообразности углубленного изучения специфической активности и механизма действия соединения (1R,2R,4R)-1,7,7-триметил-N-(4-этилфенил)бицикло(2,2,1)гептан-2-амин (4е).

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено за счет гранта Российского Научного Фонда № 22-13-20062, <https://rscf.ru/project/22-13-20062/> и гранта Администрации Волгоградской области по соглашению № 2 от 31.05.2024 г. с использованием парка аналитических приборов Центра коллективного пользования (ЦКП) Новосибирского института органической химии имени Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук и Центра коллективного пользования (ЦКП) «Физико-химические методы исследования» Волгоградского государственного технического университета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.А. Вернигора — осуществление научно-исследовательского процесса, синтез химических веществ;
 Л.Л. Брунилина — создание и подготовка рукописи; А.В. Кажберов — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выделение и очистку химических структур; Н.С. Болохов — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов с животными, создание и подготовка рукописи, применение статистических методов для анализа данных исследования;
 А.А. Похлебин — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов с животными; А.А. Соколова — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов с животными; В.Э. Пустынников — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов с животными; И.Н. Тюренков — контроль, лидерство и наставничество в процессе планирования и проведения исследования; И.А. Новаков — контроль, лидерство и наставничество в процессе планирования и проведения исследования; В.И. Краснов, Д.Н. Половяненко — осуществление научно-исследовательского процесса, включая идентификацию химических структур. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Watanabe N., Stewart R., Jenkins R., Bhugra D.K., Furukawa T.A. The epidemiology of chronic fatigue, physical illness, and symptoms of common mental disorders: a cross-sectional survey from the second British National Survey of Psychiatric Morbidity // *J Psychosom Res.* — 2008. — Vol. 64, No. 4. — P. 357–362. DOI: 10.1016/j.jpsychores.2007.12.003
2. Noor N., Urits I., Degueure A., Rando L., Kata V., Cornett E.M., Kaye A.D., Imani F., Narimani-Zamanabadi M., Varrassi G., Viswanath O. A Comprehensive Update of the Current Understanding of Chronic Fatigue Syndrome // *Anesth Pain Med.* — 2021. — Vol. 11, No. 3. — P. e113629. DOI: 10.5812/aapm.113629
3. Vernigora A.A., Brunilin R.V., Vostrikova O.V., Dushkin A.V., Kirillov I.A., Kotlyarova A.A., Meteleva E.S., Morozova E.A., Nawrozkiy M.B., Tolstikova T.G., Novakov I.A. Comparative evaluation of the pharmacological activity of fatty aromatic amides and amines with a framework moiety and their non-covalent complexes // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* — 2023. — Vol. 57, No. 4. — P. 523–534. DOI: 10.1007/s11094-023-02915-z
4. Kotlyarova A.A., Ponomarev K.Yu., Morozova E.A., Korchagina D.V., Suslov E.V., Pavlova A.V., Tolstikova T.G., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F. The effect of 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonanes containing monoterpenoid moieties on the physical activity of mice // *Journal of Research in Pharmacy.* — 2020. — Vol. 24, No. 2. — P. 196–204. DOI: 10.35333/jrp.2020.136
5. Krittanawong C., Maitra N.S., Qadeer Y.K., Wang Z., Fogg S., Storch E.A., Celano C.M., Huffman J.C., Jha M., Charney D.S., Lavie C.J. Association of Depression and Cardiovascular Disease // *Am J Med.* — 2023. — Vol. 136, No. 9. — P. 881–895. DOI: 10.1016/j.amjmed.2023.04.036
6. Todorova V., Ivanov K., Delattre C., Nalbantova V., Karcheva-Bahchevanska D., Ivanova S. Plant Adaptogens-History and Future Perspectives // *Nutrients.* — 2021. — Vol. 13, No. 8. — P. 2861. DOI: 10.3390/nu13082861
7. Boumendjel M., Boucheker A., Feknous S., Taibi F., Rekioua N., Bouzeraa N., Chibi A., Feknous N., Baraoui A., N'har S., Toubal A., Taguida A., Zaidi H., Sekiou O., Bouziane I., Metai A., Bouaziz M., Benselhoub A., Boumendjel A., Messarah M. Adaptogenic activity of Cinnamomum camphora, Eucalyptus globulus, Lavandula stoechas and Rosmarinus officinalis essential oil used in North-African folk medicine // *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* — 2021. — Vol. 67, No. 2. — P. 83–88. DOI: 10.14715/cmb/2021.67.2.12
8. Oliynyk S., Oh S. The pharmacology of actoprotectors: practical application for improvement of mental and physical performance // *Biomol Ther (Seoul).* — 2012. — Vol. 20, No. 5. — P. 446–456. DOI: 10.4062/biomolther.2012.20.5.446
9. Ковалев Н.С., Бакулин Д.А., Абросимова Е.Е., Куркин Д.В., Пустынников В.Э., Климович Ю.Н., Ткаченко И.М., Тюренков И.Н. Влияние адамантанового производного альфа-пирролидона на физическую работоспособность, психоэмоциональную и когнитивную функцию лабораторных животных в сравнении с бромантаном // *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* — 2021. — Т. 18, № 2. — С. 98–102. DOI: 10.19163/1994-9480-2021-2(78)-98-102
10. Студенцов Е.П., Рамш С.М., Казурова Н.Г., Непорожнева О.В., Гарабджиу А.В., Кочина Т.А., Воронков М.Г., Кузнецов В.А., Криворотов Д.В. Адаптогены и родственные группы лекарственных препаратов—50 лет поисков // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* — 2013. — Т. 11, № 4. — С. 3–43. DOI: 10.17816/RCF1143-43
11. Morozov I.S., Klimova N.V., Lavrova L.N., Avdyunina N.I., Pyatin B.M., Troitskaya V.S., Bykov N.P. N-adamantyl derivatives of aromatic amines. Part I. Synthesis and neurotropic activity of N-(adamant-2-yl)anilines // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 1998. — Vol. 32, No. 1. — P. 1–4. DOI: 10.1007/BF02464216
12. Morozov IS, Ivanova IA, Lukicheva TA. Actoprotector and adaptogen properties of adamantane derivatives (a review) // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* — 2001. — Vol. 35, No. 5. — P. 235–238. DOI: 10.1023/A:1011905302667
13. Авторское свидетельство № 1826906 СССР, МПК А61К 31/136, А61К 31/135, А61Р 37/04. Иммуностимулирующее средство «Бромантан»: № 4947668: заявл. 21.06.1991: опубл. 07.07.1993 / Морозов И.С., Арцимович Н.Г., Фадеева Т.А. [и др.]; заявитель Научно-исследовательский институт фармакологии.
14. Tallerova A., Kovalenko L., Tsorin I., Durnev A., Seredenin S. Effects of the Novel Anti-Asthenic Drug Ladasten on Behavior and T-Cell Subsets Alterations in a Social Defeat Animal Model of Depression // *Pharmacology & Pharmacy.* — 2014. — Vol. 5. — P. 4–10. DOI: 10.4236/pp.2014.51002
15. Seredenin SB, Miramedova AG. Analysis of pharmacological properties of bromantane // *Biull Eksp Biol Med.* — 1999. — Vol. 128, No. 11. — P. 529–531.
16. Seredenin S.B., Miramedova A.G., Kozlovskaya M.M.

- The effect of bromantane on the behavior of inbred mouse strains with different phenotypes of emotional stress reaction // *Eksp Klin Farmakol.* – 1999. – Vol. 62, No. 3. – P. 3–6.
17. Авторское свидетельство № 1646256 А1 СССР, МПК C07C 233/65, A61K 31/165, A61K 31/166. 2-(пара-бромбензоил) или 2-(пара-хлорбензоил) аминокетаны, повышающие резистентность организма к действию экстремальных факторов среды обитания и обладающие иммуностимулирующей активностью: № 4735457/04 : заявл. 13.07.1989: опубл. 10.06.1996 / И.С. Морозов, Н.Г. Арцимович, Н.В. Климова [и др.].
18. Тандура С.Н., Зарубаев В.В., Анфимов П.М., Киселев О.И. Противогриппозный химиопрепарат Дейтифорин // *Антибиотики и Химиотерапия.* – 2013. – Т. 58, № 1-2. – С. 36–48. EDN: SXWTHZ
19. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review // *Int J Food Microbiol.* – 2004. – Vol. 94, No. 3. – P. 223–253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
20. Vernigora A.A., Brunilin R.V., Burmistrov V.V., Davidenko A.V., Nawrozkiy M.B., Salykin N.A., Chernyshov V.V., Novakov I.A. New Efficient Approach to the Preparation of (+)-Camphor and (-)-Fenchone Anils under Homogeneous Catalysis Conditions // *Doklady Chemistry.* – 2023. – Vol. 512, No. 1. – P. 260–265. DOI: 10.1134/S0012500823600700
21. Brunilin R.V., Vernigora A.A., Vostrikova O.V., Davidenko A.V., Nawrozkiy M.B., Salykin N.A., Novakov I.A. Development and competitive evaluation of methods for the reduction of (het)arylimines of cage-structured monoterpenoid ketones // *Russian Chemical Bulletin.* – 2022. – Vol. 71, No. 8. – P. 1662–1669. DOI: 10.1007/s11172-022-3576-1
22. Vernigora A.A., Davidenko A.V., Salykin N.A., Brunilina L.L., Nebykov D.N., Lavrenov S.N., Isakova E.B., Trenin A.S., Nefedov A.A., Krasnov V.I., Polovyanenko D.N., Novakov I.A. Aniline derivatives containing a cage monoterpenoid fragment at the nitrogen atom: synthesis and study of antibacterial properties // *Russian Chemical Bulletin.* – 2024. – Vol. 73, No. 1. – P. 168–178. DOI: 10.1007/s11172-024-4129-6
23. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review // *Eur J Pharmacol.* – 2003. – Vol. 463, No. 1-3. – P. 3–33. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01272-X
24. Pentkowski N.S., Rogge-Obando K.K., Donaldson T.N., Bouquin S.J., Clark B.J. Anxiety and Alzheimer's disease: Behavioral analysis and neural basis in rodent models of Alzheimer's-related neuropathology // *Neurosci Biobehav Rev.* – 2021. – Vol. 127. – P. 647–658. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.05.005
25. Beldjoud H., Barsegyan A., Roozendaal B. Noradrenergic activation of the basolateral amygdala enhances object recognition memory and induces chromatin remodeling in the insular cortex // *Front Behav Neurosci.* – 2015. – Vol. 9. – P. 108. DOI: 10.3389/fnbeh.2015.00108
26. Chukicheva I.Yu., Shumova O.A., Shevchenko O.G., Kutchin A.V. Synthesis of N- and C-terphenylanilines and the study of their properties // *Russian Chemical Bulletin.* – 2024. – Vol. 73, No. 3. – P. 580–587. DOI: 10.1007/s11172-024-4168-z
27. Stewart S.A. The effects of benzodiazepines on cognition // *J Clin Psychiatry.* – 2005. – Vol. 66, Suppl. 2. – P. 9–13.
28. Gravielle M.C. Activation-induced regulation of GABA_A receptors: Is there a link with the molecular basis of benzodiazepine tolerance? // *Pharmacol Res.* – 2016. – Vol. 109. – P. 92–100. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.12.030
29. Вернигора А.А., Брунилин Р.В., Бурмистров В.В., Давиденко А.В., Навроцкий М.Б., Салыкин Н.А., Чернышов В.В., Новаков И.А. Новый эффективный подход к получению анилов (+)камфоры и (-)фенхона в условиях гомогенного катализа // *Доклады Российской академии наук. Химия, науки о материалах.* – 2023. – Т. 512, № 1. – С. 52–58. DOI: 10.31857/S2686953522600775

АВТОРЫ

Вернигора Андрей Александрович — старший преподаватель кафедры органической химии ФГБОУ ВО ВолгГТУ. ORCID ID: 0000-0001-6456-0910. E-mail: vernigora@vstu.ru

Брунилина Лейла Липпаритовна — кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры органической химии ФГБОУ ВО ВолгГТУ. ORCID ID: 0000-0001-9956-5412. E-mail: leila_1974@mail.ru

Кажберов Андрей Викторович — студент группы ХТ-341 ФГБОУ ВО ВолгГТУ. ORCID ID: 0009-0002-4544-3393. E-mail: andejkazberov37042@gmail.com

Болохов Никита Сергеевич — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармации ИНМФО ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-2458-5731. E-mail: nikita.bolokhov@volgmed.ru

Похлебин Александр Андреевич — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармации ИНМФО ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0474-5005. E-mail: spohlebin12340@mail.ru

Соколова Алина Александровна — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармации ИНМФО ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5116-8458. E-mail: sokolovaaa.volgmed@gmail.com

Пустынников Владислав Эдуардович — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фармации ИНМФО ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9561-5320. E-mail: Pustynnikov.volgmed@gmail.com

Тюренок Иван Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; член-корреспондент РАН. ORCID ID: 0000-0001-7574-3923. E-mail: fibfuv@mail.ru

Новаков Иван Александрович — доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической, физической химии и физико-химии полимеров ФГБОУ ВО ВолгГТУ; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-0980-6591. E-mail: phanchem@vstu.ru

Краснов Вячеслав Иванович — кандидат химических наук, старший научный сотрудник ФГБУН НИОХ СО РАН. ORCID ID: 0000-0002-5387-8365. E-mail: krasnov@nioch.nsc.ru

Половяненко Дмитрий Николаевич — кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, руководитель лаборатории ФГБУН НИОХ СО РАН. ORCID ID: 0009-0000-3835-825X. E-mail: dpolo@nioch.nsc.ru