

Фармакофорный анализ структуры нового 1,3,4-тиадиазолиламидного производного вальпроевой кислоты

Малыгин А. С.¹

аспирант, кафедра фармакологии и клинической фармакологии

Яснецов В. В.²

д.м.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория экспериментальной и клинической фармакологии

1 – ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России

2 – ФБУН Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук

Автор для корреспонденции: Малыгин Александр Сергеевич; **e-mail:** dr.a.s.m@yandex.ru.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Проведен фармакофорный анализ структуры вальпрозоламида – 1,3,4-тиадиазолиламидного производного вальпроевой кислоты. Показано, что новый вальпроат содержит замещенную амидную группу, гидрофобный и электронодонорный домены – фармакофоры, которые определяют его противоэпилептическую активность. Вальпроевая кислота имеет только гидрофобный фрагмент. Модификация вальпроевой кислоты путем введения в ее структуру дополнительного фармакофора – 1,3,4-тиадиазола приводит к снижению токсичности и повышению противоэпилептической активности.

Ключевые слова: фармакофорный анализ, вальпроевая кислота, 1,3,4-тиадиазол, противоэпилептическая активность

doi: 10.29234/2308-9113-2020-8-3-58-66

Для цитирования: Малыгин А. С., Яснецов В. В. Фармакофорный анализ структуры нового 1,3,4-тиадиазолиламидного производного вальпроевой кислоты. *Медицина* 2020; 8(3): 58-66.

Введение

Проведение фармакофорного анализа биологически активных веществ и моделирование новых молекул на основе фармакофоров является перспективным направлением в повышении эффективности лекарственных средств различных фармакологических групп, в том числе с противоэпилептической активностью. Актуальность разработки новых антиконвульсантов связана с высокой частотой фармакорезистентности [1] и недостаточной безопасностью имеющихся препаратов [2]. В настоящее время известны различные фармакофоры, которые участвуют в реализации противосудорожных свойств лекарственных средств. В исследовании [3] показано, что простейшим фармакофором, определяющим противоэпилептическую активность, является α -замещенная амидная

группа. S.N. Pandeya [4] предложил фармакофорную модель, в которой для противоэпилептических средств значимыми являются следующие фармакофоры: электронодонорный домен, гидрофобный арильный или иной дистальный гидрофобный радикал, водородные связи. Фармакофорный подход был успешно использован для поиска соединений с противоэпилептическими свойствами [5].

Антиконвульсантом наиболее простого строения является вальпроевая кислота, которая представляет собой жирную кислоту с химической структурой – 2-пропилпентановая кислота. Преимуществом вальпроевой кислоты является ее эффективность при эпилепсии различных форм, а также широкий спектр фармакологической активности, в том числе противоопухолевое, обезболивающее, антиретровирусное, нейропротекторное действие и др. [6-7]. В связи с этим целесообразным представляется модификация химической структуры вальпроевой кислоты путем введения дополнительных фармакофоров.

Новым 1,3,4-тиадиазолиамидным производным вальпроевой кислоты является N-(5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил)-2-пропилпентанамид, синтезированный в АО «ВНЦ БАВ» (Московская область, Старая Купавна) [8]. Экспериментально было показано наличие у нового вальпроата противоэпилептической активности [9-10] и низкой токсичности [11]. Для оценки полученных результатов и определения направлений дальнейшего поиска эффективных противоэпилептических средств целесообразным является проведение фармакофорного анализа структуры данного вальпроата.

Цель исследования

Цель исследования – провести сравнительный фармакофорный анализ структуры вальпроевой кислоты и ее нового 1,3,4-тиадиазолиамидного производного.

Материалы и методы исследования

В работе исследовали N-(5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил)-2-пропилпентанамид – новое 1,3,4-тиадиазолиамидное производное вальпроевой кислоты с лабораторным наименованием вальпразоламид. Химическую структуру нового вальпроата устанавливали спектроскопическими методами (ИК-, ЯМР-, масс-спектрометрии) [9]. ИК-спектр ($\nu/\text{см}^{-1}$) вальпразоламида: 3302, 3030 (NH), 2981, 2959, 2860 (CH), 1545 (NHCO). ЯМР-спектр: ^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm: 0,97 (s, 3H, CH₃), 1,33 (s, 2H, CH₂), 1,41–1,50 (m, 4H), 2,65 (s, 2H, CH₂), 10,63 (s, 1H, NH); ^{13}C -ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm: 13,48, 13,66, 20,06, 24,70, 35,27, 43,22, 155,85, 156,5, 175,00. Масс-спектр (с использованием электроспрей ионизации – ESI): ESI^+ – m/z 256,1 ($[\text{M} + \text{H}]^+$); ESI^- – m/z 254,0 ($[\text{M} - \text{H}]^-$).

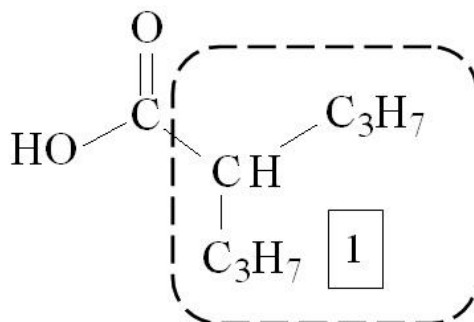
Оценку фармакологической активности и токсичности вальпроламида проводили в экспериментах на аутбредных мышах SNK обоего пола массой 19-21 г. Содержание подопытных животных и обращение с ними во время экспериментов соответствовали всем установленным требованиям [12-13]. В качестве референтного препарата применяли вальпроевую кислоту. Значение LD_{50} (полулетальной дозы) вальпроламида и вальпроевой кислоты определяли методом пробит-анализа. Нейротоксичность антиконвульсантов оценивали в тесте вращающегося стержня (rotarod test) [14]. Моделирование эпилепсии осуществляли с использованием отечественных [14] и зарубежных [15] рекомендаций. Оценку противосеизмической активности проводили на моделях максимального электрошока, антагонизма с пентилентетразолом, изониазидом, тиосемикарбазидом, пилокарпином и камфорой. Определяли значения ED_{50} (средней терапевтической дозы), терапевтического (TI – отношение полулетальной дозы к средней терапевтической) и протективного (PI – отношение средней токсической дозы к средней терапевтической) индексов.

Для статистического анализа использовали «BioStat, 2009» (AnalystSoft; США). Для оценки типа распределения данных применяли *W*-критерий Шапиро-Уилка. При нормальном распределении данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), при отсутствии нормального распределения – критерий Краскела-Уоллиса и *U*-тест Манна-Уитни. Расчет доз осуществляли методом пробит-анализа Финни с указанием 95% доверительного интервала.

Результаты исследования и их обсуждение

Вальпроевая (2-пропилпентановая) кислота – это короткоцепочечная насыщенная жирная кислота с разветвленной цепью, которая очень мало растворима в воде. Основным фармакофором, определяющим противосеизмическую активность вальпроевой кислоты, является гидрофобный фрагмент, представляющий собой разветвленную углеводородную цепь (рис.1).

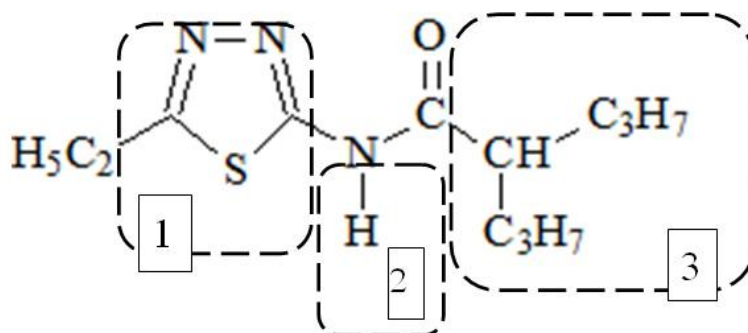
Рис. 1. Фармакофорный анализ структуры вальпроевой кислоты.



1 – гидрофобный фрагмент (разветвленный углеводородный радикал)

Вальпрозоламид (N-(5-этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил)-2-пропилпентанамид) был получен путем модификации молекулы вальпроевой кислоты за счет введения дополнительных фармакофоров: замещенной амидной группы и электронодонорного домена (1,3,4-тиадиазола) (рис. 2).

Рис. 2. Фармакофорный анализ структуры вальпрозоламида.



1 – электронодонорный домен; 2 – замещенная амидная группа; 3 – гидрофобный фрагмент

По результатам пробит-анализа величина полулетальной дозы (LD_{50}) вальпрозоламида при внутрибрюшинном введении мышам составила 924,8 ($756,9 \div 1063,7$) мг/кг, что было в среднем в 1,8 раза ($p < 0,05$) выше, чем у вальпроевой кислоты – 512,9 ($399,0 \div 611,7$) мг/кг. Полученные данные свидетельствуют о меньшей острой токсичности модифицированного вальпроата.

Наличие противэпилептической активности у вальпрозоламида было показано в экспериментах на мышах при судорогах, индуцированных максимальным электрошоком (МЭШ) и в тестах антагонизма с конвульсантами, имеющими различные механизмы действия (табл. 1).

Таблица 1. Механизм действия конвульсантов и эффективность вальпрозоламида при судорогах, индуцированных химическими агентами

Конвульсант	Механизм действия конвульсанта	Эффективность вальпрозоламида
Пентилентетразол (95 мг/кг, подкожно)	Антагонист ГАМК _A -рецепторов	Уменьшение летальности Удлинение латентного периода судорог
Изониазид (250 мг/кг внутрибрюшинно)	Ингибитор синтеза ГАМК (ингибитор глутаматдекарбоксилазы)	Уменьшение летальности Удлинение латентного периода судорог
Тиосемикарбазид (30 мг/кг внутрибрюшинно)	Ингибитор синтеза ГАМК (ингибитор глутаматдекарбоксилазы)	Уменьшение летальности Удлинение латентного периода судорог
Пилокарпин (350 мг/кг внутрибрюшинно)	М-холиномиметик	Удлинение латентного периода судорог (миоклонус головы)
Камфора (1000 мг/кг, внутрибрюшинно)	Аналептик, нарушение обмена моноаминов в ЦНС	Удлинение латентного периода судорог

Наибольшую противоэпилептическую активность новый вальпроат проявлял при судорогах, индуцированных максимальным электрошоком, а также средствами, уменьшающими содержание ГАМК в головном мозге – антагонистом ГАМК_A-рецепторов пентилентетразолом и ингибитором синтеза ГАМК изониазидом. Для данных моделей эпилепсии значения ED₅₀ вальпрозоламида (внутрибрюшинно, мыши) составили соответственно 138,4 (97,2÷197,2) мг/кг, 74,5 (46,8÷106,4) мг/кг и 126,8 (65,5÷245,4) мг/кг. При тиосемикарбазид-индуцированных судорогах у мышей новый вальпроат в дозе 150 мг/кг уменьшал летальность подопытных мышей на 37,5% по сравнению с контролем, что было сопоставимо с эффектами вальпроевой кислоты в дозе 200 мг/кг. При судорогах, индуцированных МЭШ и подкожным введением пентилентетразола значения терапевтического и протективного индексов вальпрозоламида статистически значимо превышали аналогичные у вальпроевой кислоты (табл. 2).

Таблица 2. Противоэпилептическая активность вальпроевой кислоты и вальпрозоламида при судорогах, индуцированных максимальным электрошоком и пентилентетразолом при подкожном введении у мышей

Серия опытов	МЭШ			ПТЗ		
	ED ₅₀ , мг/кг	ТИ	ПИ	ED ₅₀ , мг/кг	ТИ	ПИ
ВК	234,0 (181,4÷278,1)	2,2	1,7	179,3 (137,8÷326,0)	2,9	2,1
ВПЗ	138,4 (97,2÷197,2)	6,7	3,3	74,5 (46,8÷106,4)	12,4	6,1

Примечание: МЭШ – максимальный электрошок, ПТЗ – пентилентетразол, ED₅₀ – средняя терапевтическая доза, ТИ – терапевтический индекс, ПИ – протективный индекс, ВК – вальпроевая кислота, ВПЗ – вальпрозоламид.

В тестах антагонизма с пилокарпином и камфорой вальпрозоламид статистически значимо удлинял латентный период первого судорожного приступа, однако не влиял на выживаемость подопытных животных.

Таким образом, сравнительный анализ фармакологической активности вальпрозоламида и вальпроевой кислоты показал, что новый вальпроат обладал более выраженными противоэпилептическими свойствами и меньшей острой токсичностью по сравнению с референтным препаратом. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, изучавших модифицированные формы вальпроевой кислоты и 1,3,4-тиадиазолы с противоэпилептической активностью.

Наиболее простым по химическому строению модифицированным вальпроатом является вальпромид (2-пропилпентанамид), представляющий собой амидированную форму вальпроевой кислоты. В тестах максимального электрошока и антагонизма с пентилентетразолом у мышей вальпромид был в среднем в 2-5 раз эффективнее вальпроевой кислоты, однако имел более выраженные седативные свойства и большую токсичность [16]. В исследованиях [17-18] показано, что амидирование карбоксильной группы вальпроевой кислоты приводило к снижению тератогенных свойств, что важно

для клинической практики, так как одним из наиболее значимых побочных эффектов вальпроевой кислоты является ее тератогенность.

Наряду с замещенной амидной группой в структуре нового вальпроата имеется электронодонорный домен 1,3,4-тиадиазола. Среди производных 1,3,4-тиадиазола выявлено большое число соединений с выраженными противоэпилептическими свойствами [19-20]. Показано, что введение фрагмента 1,3,4-тиадиазола в структуру известного антиконвульсанта фенитоина приводило к повышению его противоэпилептической активности [21]. Известно, что многие 1,3,4-тиадиазоловые производные обладают меньшей токсичностью по сравнению с исходными веществами [22-23]. Приведенные данные показывают актуальность использования фармакофорного подхода к созданию новых противоэпилептических средств.

Выводы

1. Установлены фармакофоры, определяющие фармакологические свойства вальпроевой кислоты и вальпрозоламида – ее нового 1,3,4-тиадиазолиламидного производного: они содержат в своей структуре гидрофобный домен (дистальный углеводородный радикал), с которым связано их противоэпилептическое действие.
2. Модификация вальпроевой кислоты путем введения дополнительных фармакофоров – замещенной амидной группы и электронодонорного фрагмента (1,3,4-тиадиазола) – привела к снижению острой токсичности и повышению противоэпилептической активности нового вальпроата.

Литература

1. Kalilani L., Sun X, Pelgrims B. et al. The epidemiology of drug-resistant epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia* 2018; 59 (12): 2179-2193.
2. Авакян Г.Н., Белоусова Е.Д., Бурд С.Г. и др. Проблемы эпилептологии. Ключевые приоритеты, задачи, вызовы и способы их решения. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния* 2019; 11 (4): 395-406.
3. Krivoshein A.V. Antiepileptic Drugs Based on the α -Substituted Amide Group Pharmacophore: From Chemical Crystallography to Molecular Pharmaceutics. *Curr Pharm Des.* 2016; 22 (32): 5029-5040.
4. Pandeya S.N., Raja A.S., Stables J.P. Synthesis of isatin semicarbazones as novel anticonvulsants – role of hydrogen bonding. *J Pharm Pharm Sci.* 2002; 5 (3): 266-271.
5. Khan H.N., Kulsoom S., Rashid H. Ligand based pharmacophore model development for the identification of novel antiepileptic compound. *Epilepsy Res.* 2012; 98 (1): 62-71.
6. Tomson T., Battino D., Perucca E. The remarkable story of valproic acid. *Lancet Neurol.* 2016; 15(2): 141.

7. Perucca E. Pharmacological and therapeutical properties of valproate: a summary after 35 years of clinical experience. *CNS Drugs* 2012; 16 (10): 695-714.
8. Пат. 2651572 Российская Федерация, МПК А 61 К 31/433 N-(5-Этил-1,3,4-тиадиазол-2-ил)-2-пропилпентанамид, обладающий противоэпилептической и обезболивающей активностями. С.Я. Скачилова, А.С. Малыгин, Н.С. Попов [и др.]; заявитель и патентообладатель ОАО ВНЦ БАВ. – № 267288; заявл. 13.03.2018; опубл. 20.11.2018, Бюл. № 32. 8 с.
9. Malygin A.S., Demidova M.A., Skachilova S.Ya., Shilova E.V. Synthesis of a novel amide derivative of valproic acid and 1,3,4-thiadiazole with antiepileptic activity. *Bulletin of RSMU*. 2020; 1: 75-80.
10. Малыгин А.С. Исследование противоэпилептической активности нового амидного производного вальпроевой кислоты и 1,3,4-тиадиазола. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния* 2019; 4: 357-363.
11. Малыгин А.С. Оценка острой токсичности и нейротоксичности нового амидного производного вальпроевой кислоты и 1,3,4-тиадиазола. *Медицина* 2019; 3: 37-46.
12. Приказ МЗ РФ от 01.04.2016 № 199н "Правила надлежащей лабораторной практики".
13. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Directive 2010/63/EU).
14. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. 944 с.
15. Kandratavicius L., Balista P., Lopes-Aguiar C. et al. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2014; 10: 1693-1705.
16. Löscher W., Nau H. Pharmacological evaluation of various metabolites and analogues of valproic acid: anticonvulsant and toxic potencies in mice. *Neuropharmacology* 1985; 24(5): 427-435.
17. Okada A., Kurihara H., Aoki Y. et al. Amidic modification of valproic acid reduces skeletal teratogenicity in mice. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2004; 71(1): 47-53.
18. Radatz M., Ehlers K., Yagen B. et al. Valnoctamide, valpromide and valnoctic acid are much less teratogenic in mice than valproic acid. *Epilepsy Res*. 1998; 30(1):41-48.
19. Raj V., Rai A., Singh M. Recent Update on 1,3,4-Thiadiazole Derivatives: As Anticonvulsant Agents. *American Research Journal of Pharmacy* 2015; 1(1): doi: 10.21694/2380-5706.15005
20. Luszczki J.J., Kaspinska M., Matysiak J., Niewiadomy A. Characterization and preliminary anticonvulsant assessment of some 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Pharmacol Rep*. 2015; 67(3): 588-592.
21. Botros S., Khalil N.A., Naguib B.H., El-Dash Y. Synthesis and anticonvulsant activity of new phenytoin. *Eur J Med Chem*. 2013; 60: 57-63.
22. Matysiak J. Biological and pharmacological activities of 1,3,4-thiadiazole based compounds. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 2015; 15 (9): 762-775.
23. Popov N., Demidova M., Malygin A. Assessment of pharmacological activity and bioavailability of the new derivative 1,3,4-thiadiazole. *Research Results in Pharmacology* 2018; 4(2): 27-46.

Pharmacophoric Analysis of the Structure of a New 1,3,4-Thiadiazolylamide Derivative of Valproic Acid

Malygin A. S.¹

Post-graduate student, Chair for Pharmacology and Clinical Pharmacology

Yasnetsov V. V.²

Doctor of Medicine, Leading Researcher, Chair for Experimental and Clinical Pharmacology

1 – Tver State Medical University, Tver, Russia

2 – State Scientific Center of the Russian Federation – Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Corresponding author: Malygin A.S.; **e-mail:** dr.a.s.m@yandex.ru.

Conflict of interest: None declared.

Funding: The study had no sponsorship.

Abstract

Pharmacophoric analysis of the structure of valprazolamide, a 1,3,4-thiadiazolylamide derivative of valproic acid, was carried out. It was shown that the new valproate contains a substituted amide group, hydrophobic and electron-donor domains – pharmacophores, determining its antiepileptic activity. Valproic acid has only a hydrophobic moiety. Modification of valproic acid by introducing an additional pharmacophore, 1,3,4-thiadiazole, into its structure leads to a decrease in toxicity and an increase in antiepileptic activity.

Keywords: pharmacophoric analysis, valproic acid, 1,3,4-thiadiazole, antiepileptic activity

References

1. Kalilani L., Sun X., Pelgrims B. et al. The epidemiology of drug-resistant epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia* 2018; 59(12): 2179-2193.
2. Avakyan G.N., Belousova E.D., Burd S.G. et al. Problemy epileptologii. Klyuchevye priority, zadachi, vyzovy i sposoby ih resheniya. [Problems of epileptology. Key priorities, tasks, challenges and ways to address them.] *Epilepsiya i paroksizmal'nye sostoyaniya [Epilepsy and paroxysmal conditions]* 2019; 11 (4): 395-406. (In Russ.)
3. Krivoshein A.V. Antiepileptic Drugs Based on the α -Substituted Amide Group Pharmacophore: From Chemical Crystallography to Molecular Pharmaceutics. *Curr Pharm Des.* 2016; 22(32): 5029-5040.
4. Pandeya S.N., Raja A.S., Stables J.P. Synthesis of isatin semicarbazones as novel anticonvulsants – role of hydrogen bonding. *J Pharm Pharm Sci.* 2002; 5(3): 266-271.
5. Khan H.N., Kulsoom S., Rashid H. Ligand based pharmacophore model development for the identification of novel antiepileptic compound. *Epilepsy Res.* 2012; 98(1): 62-71.
6. Tomson T., Battino D., Perucca E. The remarkable story of valproic acid. *Lancet Neurol.* 2016; 15(2): 141.
7. Perucca E. Pharmacological and therapeutical properties of valproate: a summary after 35 years of clinical experience. *CNS Drugs* 2012; 16(10): 695-714.
8. Pat. 2651572 Rossijskaya Federaciya, MPK A 61 K 31/433 N-(5-Etil-1,3,4-thiadiazol-2-il)-2-propilpentanamid, obladayushchij protivoepilepticheskoj i obezbolivayushchej aktivnostyami. S.Ya. Skachilova, A.S. Malygin, N.S. Popov i dr.; zayavitel' i patentoobladatel' OAO VNC BAV. [Pat. 2651572 Russian Federation, IPC A 61 K 31/433 N-(5-Ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-2-propylpentanamide, possessing antiepileptic and analgesic activities S.Ya.

Skachilova, A.S. Malygin, N.S. Popov et al.; applicant and patentee of OJSC VNTs BAV.] № 267288; declared 03.13.2018; publ. 20.11.2018, Bul. 32. (In Russ.)

9. Malygin A.S., Demidova M.A., Skachilova S.Ya., Shilova E.V. Synthesis of a novel amide derivative of valproic acid and 1,3,4-thiadiazole with antiepileptic activity. *Bulletin of RSMU* 2020; 1: 75-80.

10. Malygin A.S. Issledovanie protivoepilepticheskoy aktivnosti novogo amidnogo proizvodnogo val'proevoy kisloty i 1,3,4-tiadiazola. [Investigation of antiepileptic activity of a new amide derivative of valproic acid and 1,3,4-thiadiazole.] *Epilepsiya i paroksizmal'nye sostoyaniya [Epilepsy and paroxysmal conditions]* 2019; 4: 357-363. (In Russ.)

11. Malygin A.S. Ocenka ostroj toksichnosti i nejrotoksichnosti novogo amidnogo proizvodnogo val'proevoy kisloty i 1,3,4-tiadiazola. [Evaluation of acute toxicity and neurotoxicity of a new amide derivative of valproic acid and 1,3,4-thiadiazole.] *Medicine* 2019; 3: 37-46. (In Russ.)

12. Prikaz MZ RF ot 01.04.2016 № 199n "Pravila nadležashchej laboratornoj praktiki" [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 01.04.2016 №199n "Rules of Good Laboratory Practice"]. (In Russ.)

13. Evropejskaya konvenciya o zashchite pozvonochnyh zhivotnyh, ispol'zuemyh dlya eksperimentov ili v inyh nauchnyh celyah (Directive 2010/63/EU). [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or Other Scientific Purposes (Directive 2010/63/EU)]. (In Russ.)

14. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs.] Moscow: Grif i K., 2012. (In Russ.)

15. Kandratavicius L., Balista P., Lopes-Aguiar C. et al. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2014; 10: 1693-1705.

16. Löscher W., Nau H. Pharmacological evaluation of various metabolites and analogues of valproic acid: anticonvulsant and toxic potencies in mice. *Neuropharmacology* 1985; 24(5): 427-435.

17. Okada A., Kurihara H., Aoki Y. et al. Amidic modification of valproic acid reduces skeletal teratogenicity in mice. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2004; 71(1): 47-53.

18. Radatz M., Ehlers K., Yagen B. et al. Valnoctamide, valpromide and valnoctic acid are much less teratogenic in mice than valproic acid. *Epilepsy Res.* 1998; 30(1):41-48.

19. Raj V., Rai A., Singh M. Recent Update on 1,3,4-Thiadiazole Derivatives: As Anticonvulsant Agents. *American Research Journal of Pharmacy* 2015; 1(1): doi: 10.21694/2380-5706.15005

20. Luszczki J.J., Kaspinska M., Matysiak J., Niewiadomy A. Characterization and preliminary anticonvulsant assessment of some 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Pharmacol Rep.* 2015; 67(3): 588-592.

21. Botros S., Khalil N.A., Naguib B.H., El-Dash Y. Synthesis and anticonvulsant activity of new phenytoin. *Eur J Med Chem.* 2013; 60: 57-63.

22. Matysiak J. Biological and pharmacological activities of 1,3,4-thiadiazole based compounds. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 2015; 15(9): 762-775.

23. Popov N., Demidova M., Malygin A. Assessment of pharmacological activity and bioavailability of the new derivative 1,3,4-thiadiazole. *Research Results in Pharmacology* 2018; 4(2): 27-46.