

АНКСИОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ 1-МЕТОКСИКАРБОНИЛМЕТИЛ-3-АРИЛАМИНО-1,2-ДИГИДРО-3H-1,4- БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОНА

Поступила 01.06.17

TSPO-рецепторы – это периферические бензодиазепиновые рецепторы (ПБДР). В отличие от центральных бензодиазепиновых рецепторов (ЦБДР) ПБДР (TSPO-рецепторы) широко представлены в органах и тканях человека и животных; они существенно вовлечены в регуляцию многих физиологических процессов в условиях нормы и патологий. Выяснение молекулярных основ взаимодействия TSPO-рецепторов с их лигандами является важной задачей современной фармакологии и медицинской химии. Мы изучали анксиолитические свойства в ряду производных 1-метоксикарбонилметил-3-ариламино-7-бром-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бензодиазепин-2-она (соединений 1–7), аффинных к TSPO. Анксиолитическая активность оценивалась в опытах на крысах по результатам теста “Конфликтная ситуация”, а общая моторная активность – в стандартной установке “Открытое поле”. Все испытанные соединения демонстрировали весьма высокую селективность связывания с TSPO-рецепторами; соединения 1–4 проявляли выраженные анксиолитические свойства по сравнению с контролем. Наивысшую анксиолитическую активность демонстрировало соединение 2; при связывании с TSPO-рецепторами $K_{i(TSPO)} = 19$, а $K_{i(ЦБДР)} > 10000$ нМ. Все исследованные соединения являются низкотоксичными; их LD_{50} превышала 500 мг/кг.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бензодиазепины, аффинитет, TSPO-рецепторы, анксиолитическая активность.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы периферические бензодиазепиновые рецепторы (ПБДР) рассматривают в качестве перспективных терапевтических мишеней при лечении таких заболеваний, как эпилепсия, болезнь Альцгеймера, церебральная ишемия, воспалительные процессы [1]. Показано, что многочисленные ПБДР присутствуют во многих тканях и органах [2–8]. Они выполняют разнообразные функции (в зависимости от ткани, в которой они экспрессируются) и, следовательно, являются полимодальными рецепторами. Обнаружено, что некоторые лиганды ПБДР (например, эмапунил, emapunil XBD-173) представляют собой эффективные анксиолитики, у которых побочные эффекты менее выражены, чем у традиционных бензодиазепиновых препаратов.

Мы исследовали анксиолитическую эффектив-

ность, влияние на двигательную активность и токсичность у синтезированных в нашей лаборатории семи производных 1-метоксикарбонилметил-3-ариламино-7-бром-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бензодиазепин-2-она (рис. 1, вещества 1–7). У соединений 1–4 замена функциональной группы в бензольном кольце R^1 не производилась (там присутствовал водород), а у веществ 5–7 водород был заменен хлором. В бензольном кольце R^2 соединения 1 замена водорода не осуществлялась, а у веществ 2–4 и 5–7 водород в этом кольце был замещен нитро-группой ($-NO_2$) в положениях 2, 3 и 4 соответственно.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах массой 180–200 г. Животные содержались на стандартном рационе в условиях вивария. Анксиолитическую активность препаратов оценивали согласно результатам стандартного теста

¹ Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, Одесса (Украина).

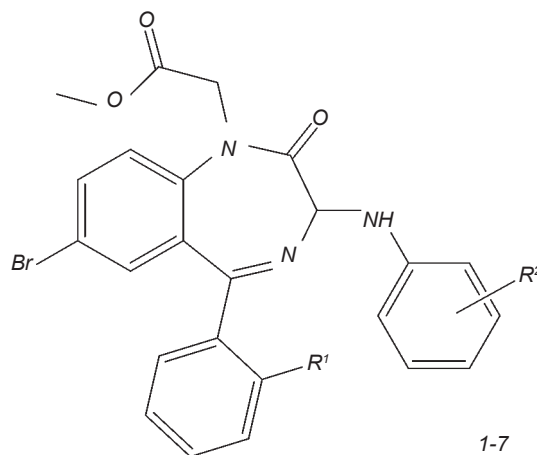
Эл. почта: zamkovaya@gmail.com (А. В. Замковая).

«Конфликтная ситуация» [8], общую моторную активность – при тестировании в условиях «Открытого поля» [8], а острую токсичность – с помощью метода Литчфилда – Уилкоксона [9]. В качестве эталона для сравнения был использован диазепам [10] (UA/8579/01/01; № 274 от 05.04.13), таблетки по 0.05 г (UA/8579/01/02 № 274 от 05.04.13). Все исследуемые соединения и референс-препарат (диазепам) вводили перорально в виде суспензии в Twin-80 в дозе 5 мг/кг за 30 мин до начала исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения взаимодействия соединений 1–7 с рецепторами с использованием метода радиорецепторного связывания показали, что молекулярными мишенями для этих агентов являются ПБДР [7] (см. таблицу). Среди изученных веществ были выявлены соединения, обладающие наиболее высоким аффинитетом к ПБДР. Эти данные находятся в хорошей корреляции со значениями анксиолитической активности соединений. Среди изученных соединений 1–7 самую высокую анксиолитическую активность продемонстрировало вещество 2. Под его влиянием количество наказуемых потреблений воды животными в тесте «Конфликтная ситуация» приближалось к соответствующему показателю для препарата сравнения диазепама.

Анализ полученных данных показал, что для соединений 1–4 была характерна весьма высокая ан-



Структурная формула 1-метоксикарбонилметил-3-ариламино-7-бром-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бензодиазепин-2-она.

Указаны структурные элементы, к которым присоединялись функциональные группы (см. текст).

Структурна формула 1-метоксикарбонилметил-3-ариламіно-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-ону.

ксиолитическая активность; показатели в упомянутом выше тесте значительно превышали среднее значение в контрольной группе животных. Введение атома хлора в *орто*-положение 5 фенильного заместителя (соединения 5 – 7) обуславливало уменьшение количества наказуемых потреблений воды, особо значительное в случаях соединений 5 и 7. Иными словами, у этих веществ проявлялся достаточно выраженный анксиогенный эффект (см. таблицу).

Аффинитет к периферическим бензодиазепиновым рецепторам (ПБДР) и анксиолитические свойства производных 1-метоксикарбонилметил-3-ариламино-7-бром-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бензодиазепин-2-она, применяемых в дозе 5 мг/кг

Афінитет до периферичних бензодіазепінових рецепторів та анксиолітичні властивості похідних 1-метоксикарбонилметил-3-ариламіно-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-ону, застосованих у дозі 5 мг/кг

Номер соединения	R ¹	R ²	Анксиолитическая активность в условиях теста «Конфликтная ситуация» (количество наказуемых потреблений воды)	K _p , нМ (по отношению к ПБДР)	Общая двигательная активность (суммарное количество двигательных актов)
Контроль	–	–	9.0 ± 1.1	–	35.3 ± 1.8
1	H	H	69.0 ± 3.7*	740.0 ± 180.0	25.8 ± 3.0*
2	H	2-NO ₂	109.5 ± 8.3*	19.1 ± 3.0	13.0 ± 4.1*
3	H	3-NO ₂	40.6 ± 3.9*	360.0 ± 41.0	17.0 ± 1.0*
4	H	4-NO ₂	38.7 ± 2.6*	87.3 ± 10.1	19.0 ± 7.7*
5	Cl	2-NO ₂	3.4 ± 1.2*	32.2 ± 7.7	40.0 ± 1.8
6	Cl	3-NO ₂	8.2 ± 3.4	398.6 ± 121.3	24.5 ± 1.2*
7	Cl	4-NO ₂	4.9 ± 2.2	430.9 ± 121.9	25.2 ± 1.3*
Диазепам	–	–	120.0 ± 4.9*	40 ± 9.2	32.5 ± 2.2*

Примечание. * Различия при сравнении с группой контроля достоверны ($P \leq 0.05$).

Оценка интенсивности общей двигательной активности в «открытом поле» показала, что соединение 5 и диазепам как препарат сравнения не снижали существенно данный показатель по сравнению с контролем. Некоторый седативный эффект в данном аспекте был характерен для соединений 2–4, однако он был относительно умеренным (см. таблицу).

Все тестированные соединения относятся к малотоксичным; значения LD_{50} при определении острой токсичности у них превышали 500 мг/кг.

Все стадии работы соответствовали положениям Европейской Конвенции о защите животных, использованных для исследовательских и иных научных целей (86/609/ЕЕС, 1986, Страсбург). Уход за животными и обращение с ними на протяжении проведения экспериментов осуществлялись в соответствии с методиками, рекомендованными Комитетом по биоэтике Государственного фармакологического центра МЗ Украины (протокол № 20 от 20 сентября 2005 г.).

Авторы настоящей работы – С. А. Андронати, Т. Л. Карасёва и А. В. Замковая – подтверждают отсутствие конфликтов любого рода, касающихся коммерческих или финансовых отношений, отношений с организациями или лицами, которые каким-либо образом могли быть связаны с исследованием, а также взаимоотношений соавторов статьи.

С. А. Андронати¹, Т. Л. Карасёва¹, А. В. Замкова¹

АНКСИОЛИТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ
1-МЕТОКСИКАРБОНІЛМЕТИЛ-3-АРИЛАМІНО-1,2-
ДИГІДРО-3H-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНУ

¹Фізико-хімічний інститут ім. А. В. Богатського НАН
України, Одеса (Україна).

Резюме

TSPO-рецептори – це периферичні бенздіазепінові рецептори (ПБДР). На відміну від центральних бенздіазепінових рецепторів (ЦБДР) ПБДР (TSPO-рецептори) широко представлені в органах і тканинах людини та тварин; вони істотно залучені в регуляцію багатьох фізіологічних процесів в умовах норми та патології. З'ясування молекулярних основ взаємодії TSPO-рецепторів з їх лігандами є важливим завданням сучасної фармакології та медичної хімії. Ми вивчали анксиолітичні властивості низки похідних 1-метоксикарбонілметил-3-ариламіно-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-ону (сполук 1–7),

які є афінними щодо TSPO-рецепторів. Анксиолітична активність оцінювалась у досліджах на щурах за результатами тесту «Конфліктна ситуація», а загальна моторна активність – у стандартній установці «Відкрите поле». Всі випробувані сполуки демонстрували доволі високу селективність зв'язування з TSPO-рецепторами; сполуки 1–4 проявляли виразні анксиолітичні властивості порівняно з контролем. Найвищу анксиолітичну активність демонструвала сполука 2; при зв'язуванні з TSPO-рецепторами $K_{i(TSPO)} = 19$, а $K_{i(ЦБДР)} > 10000$ нМ. Усі досліджені сполуки є низькотоксичними, їх LD_{50} перевищувала 500 мг/кг.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. A. M. Barron, L. M. Garcia-Segura, D. Caruso, et al., “Ligand for translocator protein reverses pathology in a mouse model of Alzheimer’s disease,” *J. Neurosci.*, **33**, No. 20, 8891-8897 (2013).
2. F. Fares, S. Bar-Ami, J. M. Brandes, and M. Gavish, “Gonadotropin- and estrogen-induced increase of peripheral-type benzodiazepine binding sites in the hypophyseal-genital axis of rats,” *Eur. J. Pharmacol.*, **133**, No. 1, 97-105 (1987).
3. J. Benavides, D. Quateronet, F. Imbault, et al., “Labelling of “peripheral-type” benzodiazepine binding sites in the rat brain by using [³H]PK 11195, an isoquinoline carboxamide derivative: kinetic studies and autoradiographic localization,” *J. Neurochem.*, **41**, 1744-1750 (1983).
4. H. Yamagishi, M. Watanabe, K. Yazaki, et al., “Pharmacological characterization of an 18-kDa protein associated with the peripheral-type benzodiazepine receptor in salivary glands,” *Jpn. J. Pharmacol.*, **82**, No. 2, 110-118 (2000).
5. M. Gavish, I. Bachman, R. Shoukni, et al., “Enigma of the peripheral benzodiazepine receptor,” *Pharmacol. Rev.*, **51**, No. 4, 629-233 (1999).
6. M. Gavish and R. Weizman, “Role of peripheral-type benzodiazepine receptors in steroidogenesis,” *Clin. Neuropharmacol.*, **20**, No. 6, 473-182 (1997).
7. N. Burenkova, V. Pavlovsky, I. Oleinich, et al., “Synthesis and selectivity of 1-methoxycarbonylmethyl-3-arylamino-7-bromo-5-phenyl-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones binding for CNS benzodiazepine receptors,” *Ukr. Bioorgan. Acta*, **7**, No. 1, 8-15 (2009).
8. С. А. Андронати, Г. Я. Авруцкий, Т. А. Воронина и др., “Методы доклинического фармакологического изучения феназепама”, в кн.: *Феназепам*, под ред. А. В. Богатского, Наук. думка, Киев (1982), с. 288.
9. В. В. Гацура, *Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ*, Наука, Москва (1974).
10. С. А. Андронати, Т. А. Воронина, Н. Я. Головенко и др., “Спектр фармакологической активности гидазепама и его место среди известных транквилизаторов”, в кн.: *Гидазепам*, под ред. С. А. Андронати, Наук. думка, Киев (1992), с. 200.