

УДК 615.214.22:547.75

ЛИГАНДЫ 5-HT_{1A} И D₂ РЕЦЕПТОРОВ – N-(АРИЛПИПЕРАЗИНИЛ)БУТИЛИМИДЫ БИЦИКЛО[2.2.1]ГЕПТ-5-ЕН-ЭНДО-ЭНДО-2,3-ДИКАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ИХ НЕЙРОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА

С.А.Андронати, Т.Л.Карасева, А.В.Замковая, С.Г.Соболева*, И.А.Бойко, Л.И.Касьян**, Д.И.Цимбал

Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины Одесса

* Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова

** Днепропетровский национальный университет им. О.Гончара

49010, г. Днепропетровск, пр. Гагарина, 72. E-mail: physchem@paso.net

Ключевые слова: арилпиперазины; норборненовый фрагмент; аффинитет; D₂ и 5-HT_{1A} рецепторы; антипсихотические и анксиолитические свойства

Известно, что гетарил(арил)пиперазины обладают выраженными нейрофармакологическими (анксиолитическими, антидепрессивными, нейролептическими и др.) свойствами. В развитии исследований взаимосвязи между структурой и свойствами N-(арилпиперазинил)бутилимидов бицикло[2.2.1]гепт-5-ен-эндо-эндо-2,3-дикарбонической кислоты (соединения 1-5) в этой работе мы изучили нейрофармакологические свойства и их аффинитет к D₂ и 5-HT_{1A} рецепторам. Методом радиолигандного связывания было установлено, что арилпиперазины 1-5 обладают высоким аффинитетом к D₂ и 5-HT_{1A} рецепторам. Установлено, что все изученные соединения обладают выраженными седативными и нейролептическими свойствами. Синтезированные соединения (1-5) проявили дозозависимый фармакологический эффект: в низких дозах (5 мг/кг) у m-толильных производных на модели «Конфликтная ситуация» в опытах на крысах обнаружен анксиолитический эффект на уровне буспирона (10 мг/кг), а в более высокой дозе (10 мг/кг) все изученные соединения на модели индукции каталепсии «Восковая гибкость» проявили выраженную антипсихотическую активность. Соединения этого ряда в дозе 10 мг/кг снижали на 33,7-86,5% апоморфин-стереотипное поведение животных, как и референс-препарат галоперидол. Синтезированные соединения малотоксичны, значения их LD₅₀ ≥ 300 мг/кг.

N-(ARYLPIPERAZINYL)BUTYLIMIDES OF BICYCLO [2.2.1]HEPT-5-EN-ENDO-ENDO-2, 3-DICARBONIC ACID – LIGANDS OF 5-HT_{1A} AND D₂ RECEPTORS, THEIR NEUROTROPIC PROPERTIES

S.A.Andronati, T.L.Karasyova, A.V.Zamkova, S.G.Soboleva, I.A.Boyko, L.I.Kasyan, D.I.Tsimbal

Key words: arylpiperazines; norbornene fragment; affinity; D₂ and 5-HT_{1A} receptors; antipsychotic and anxiolytic properties

It is known that hetaryl(aryl)piperazines possess important neuropharmacological (anxiolytic, antidepressant, neuroleptic, etc.) properties. In the process of studying the relationship between the structure and properties of N-(aryl-piperazinyl)butylimides bicyclo[2.2.1]hept-5-en-endo-endo-2,3-dicarboxylic acid (compounds 1-5) the neuropharmacological properties and their affinity for D₂ and 5-HT_{1A} receptors have been studied in this work. It has been determined by the radioligands method that arylpiperazines 1-5 possess the high affinity for D₂ and 5-HT_{1A} receptors. Compounds 1-5 have been found to have the marked sedative and neuroleptic properties. The compounds (1-5) synthesized revealed a dose-dependent pharmacological effect. In lower doses (5 mg/kg) on the model of the conflict test in rats m-tolyl derivatives had the same anxiolytic effect as buspirone (10 mg/kg); in higher doses (10 mg/kg) all compounds revealed the neuroleptic activity on the model of "Waxy flexibility" catalepsy induction. Compounds of this series in the dose of 10 mg/kg reduced the apomorphine-induced stereotypic behaviour by 33.7-86.5% in rats, as well as a reference drug haloperidol. All of these compounds are nontoxic, the value of their LD₅₀ ≥ 300 mg/kg.

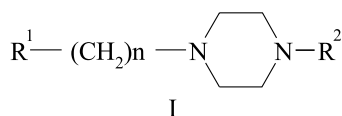
ЛІГАНДИ 5-HT_{1A} ТА D₂ РЕЦЕПТОРІВ – N-(АРИЛПІПЕРАЗИНИЛ)БУТИЛІМІДИ БІЦИКЛО[2.2.1]ГЕПТ-5-ЕН-ЕНДО-ЭНДО-2,3-ДИКАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЇХ НЕЙРОТРОПНІ ВЛАСТИВОСТІ

С.А.Андронати, Т.Л.Карасьова, А.В.Замкова, С.Г.Соболева, І.А.Бойко, Л.І.Касьян, Д.І.Цимбал

Ключові слова: арилпиперазины; норборненовий фрагмент; афінитет; D₂ та 5-HT_{1A} рецептори; антипсихотичні та анксиолітичні властивості

Відомо, що гетарил(арил)пиперазины володіють важливими нейрофармакологічними (анксиолітичними, антидепрессивними, нейролептичними та ін.) властивостями. У розвитку досліджень взаємозв'язку між структурою та властивостями N-(арилпиперазинил)бутилїмїдів біцикло [2.2.1] гепт-5-ен-ендо-ендо-2,3-дикарбонОВОЇ кислоти (сполуки 1-5) у цій роботі ми вивчили нейрофармакологічні властивості та їх афінитет до D₂ і 5-HT_{1A} рецепторів. Методом радіолїгандного зв'язування було встановлено, що арилпиперазины 1-5 володіють високим афінитетом до D₂ і 5-HT_{1A} рецепторам. Сполуки 1-5 проявили виразні седативні та нейролептичні властивості. Показано, що синтезовані сполуки (1-5) проявили дозозалежний ефект. У низьких дозах (5 мг/кг) тільки m-толільні похідні за методом «Конфліктна ситуація» у дослідях на щурах проявили анксиолітичний ефект на рівні буспірону. А у більш високій дозі (10 мг/кг) – антипсихотичну активність на моделі індукції каталепсії «Воскова гнучкість». Сполуки цього ряду в дозі 10 мг/кг знижують на 33,7-86,5% апоморфін-стереотипну поведінку тварин як референс-препарат галоперидол. Всі вивчені сполуки малотоксичні, значення їх LD₅₀ ≥ 300 мг/кг.

Гетарил(арил)пиперазины **I** обладают важными нейрофармакологическими (анксиолитическими, антидепрессивными, нейролептическими и др.) свойствами [1-3].



R¹ – имидный или амидный терминальный фрагмент; n = 2-6; R² – арильный или гетарильный фрагмент.

Многочисленные исследования посвящены буспиرونу **II**, гепирону **III**, тандоспиرونу **IV** ипсапирону **V** и флезиноксану **VI** [4-7] (схема).

Широкое применение в лечении тревожных и депрессивных состояний различного генеза нашли буспирон и тандоспирон [8-9].

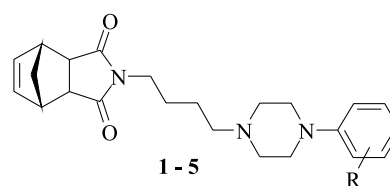
Молекулярными мишенями соединений **I** являются серотониновые рецепторы (5-HT_{1A} и 5-HT₂) и дофаминовые D₂ рецепторы. Показано, что связывание лигандов типа **I** с 5-HT_{1A} рецепторами осуществляется за счет образования водородной связи между атомом N⁴ пиперазинового кольца с остатком аспарагиновой кислоты (Asp 3.32) 3-го трансмембранного домена рецептора и CН-π взаимодействия ароматического кольца фрагмента R² с остатком фенилаланина (Phe 6.52) 6-го домена [10-14]. Существенную роль также играет терминальный фрагмент R¹, образующий водородные связи с аминокислотными остатками 2-го и 7-го доменов [13-14].

Эффекты нейролептиков в основном реализуются через дофаминовые D₂ рецепторы. Считается [15], что в связывании лигандов с дофаминовыми рецепторами участвуют электростатические взаимодействия протонированной аминогруппы лиганда и аниона аминокислоты (напри-

мер Asp-114) рецептора, водородные связи между гидроксильными группами лиганда и карбоксильными группами рецептора (Ser-193 и др.), гидрофобные взаимодействия ароматических фрагментов и ван-дер-ваальсовы взаимодействия.

Ранее были синтезированы арилпиперазины **1-5**, содержащие в качестве имидного фрагмента остаток имида бицикло[2.2.1]-гепт-5-ен-эндо, эндо-2,3-дикарбоновой кислоты [16]. Соединения этого ряда проявили высокий аффинитет к 5-HT_{1A} рецепторам.

В развитие исследований связи между структурой и свойствами соединений типа **I** [3, 17-20] в данной работе нами изучены нейрофармакологические свойства и аффинитет к D₂ рецепторам арилпиперазинов **1-5**.

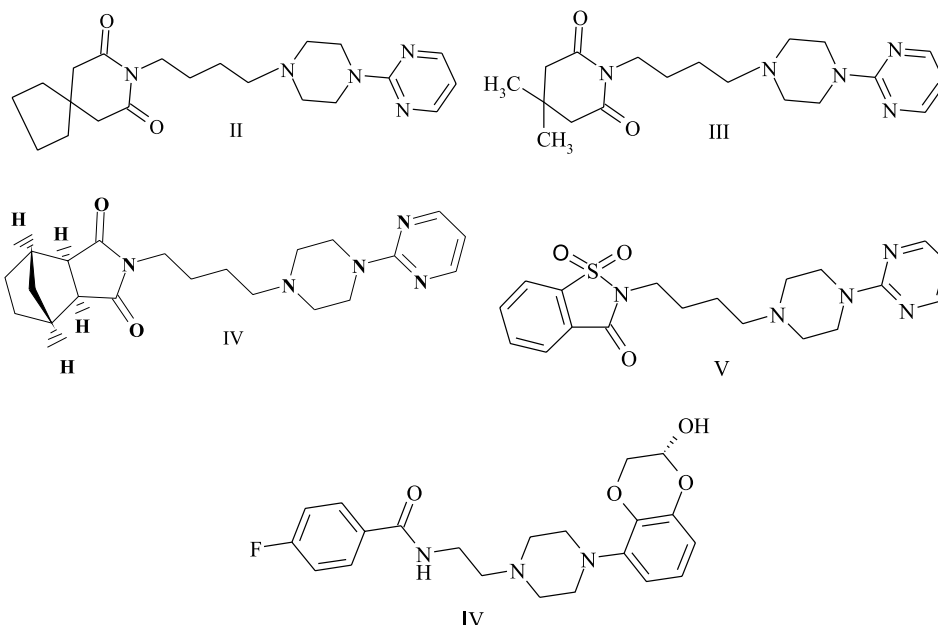


1) R = H; 2) R = o-Cl; 3) R = m-Cl;
4) R = o-CH₃; 5) R = m-CH₃.

Результаты и их обсуждение

Результаты радиолигандного изучения аффинитета соединений **1-5** к 5-HT_{1A} и D₂ рецепторам представлены в табл. 1. Величины констант ингибирования веществами **1-5** равновесного связывания радиолиганда [³H]-8-OH-DPAT (удельная радиоактивность 8470 ТБк/моль, Амстердам) с 5-HT_{1A} рецепторами веществами **1-5** взяты из [16].

Соединения **1-5** характеризуются высоким аффинитетом к 5-HT_{1A} рецепторам (K_i = 0.6-16.2 nM). При этом фенилпроизводное **1** связывается с 5-HT_{1A}



рецептором на уровне буспилона ($K_i = 16.2 \pm 2.0$, 15.0 ± 1.5 nM, соответственно), а максимальный аффинитет проявило *o*-Cl-фенильное производное **2** ($K_i = 0.6 \pm 0.08$ nM).

Данные по связыванию соединений с D_2 рецепторами получены в настоящей работе.

Из результатов радиолигандного анализа видно, что изученные соединения проявляют выраженное сродство к дофаминовым D_2 рецепторам (K_i 4,5-36,3 nM). *m*-Cl- и *m*-толильное производные **3** и **5** связываются на одном уровне ($K_i = 3.5 \pm 0.5$ и 3.6 ± 0.5 nM, соответственно). Близким аффинитетом в пределах доверительных интервалов обладали соединения **1-3** и **5** и несколько более низким *o*-толильное производное **4** (табл. 1).

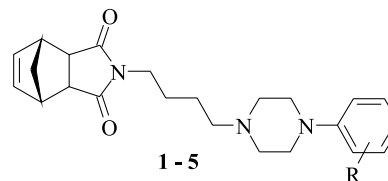
Как известно, спиперон является неселективным антагонистом серотониновых и дофаминовых рецепторов. Он проявляет нейролептические свойства как антагонист дофаминовых рецепторов и не обладает анксиолитическими свойствами или даже, проявляя анксиогенные свойства, рассматривается как обратный агонист серотониновых рецепторов.

Соединения **1-5** подобно спиперону обладают высоким аффинитетом как к 5-HT_{1A} , так и к дофаминовым D_2 рецепторам (табл. 1).

В дозе 10 мг/кг они проявили выраженный седативный эффект по сравнению с контролем и буспилоном, снижая практически до нулевых значений (0,3-2 двигательных акта) общую двигательную активность животных в открытом по-

Таблица 1

Аффинитет соединений **1-5**
к 5-HT_{1A} и D_2 рецепторам



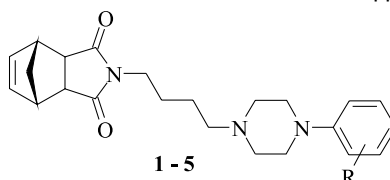
Соединение, №	R	K_i , nM	
		5-HT_{1A} рецепторы	D_2 рецепторы
1	H	$16,2 \pm 2,0$	$10,8 \pm 4,5$
2	<i>o</i> -Cl	$0,60 \pm 0,08$	$7,0 \pm 3,3$
3	<i>m</i> -Cl	$3,5 \pm 0,5$	$6,4 \pm 3,1$
4	<i>o</i> -CH ₃	$8,3 \pm 0,9$	$36,3 \pm 15,5$
5	<i>m</i> -CH ₃	$3,6 \pm 0,5$	$4,5 \pm 1,9$
Буспирон	-	$15,0 \pm 1,5$	-

ле (табл. 2). С уменьшением дозы до 5 мг/кг седативная активность соединений **1-5** снижается и суммарное количество двигательных актов увеличивается (табл. 2). Все изученные производные арилпиперазина на 100% угнетали ориентировочные рефлексы мышей в тесте залезания на сетку в дозах 5 и 10 мг/кг.

При внутрибрюшинном введении крысам соединения **1** в дозе 5 мг/кг количество наказуемых взятий воды было на уровне контроля (табл. 2). Анксиолитическое действие проявили *мета*-за-

Таблица 2

Нейрофармакологические свойства соединений **1-5**



1) R = H; 2) R = *o*-Cl; 3) R = *m*-Cl; 4) R = *o*-CH₃; 5) R = *m*-CH₃.

Соединение, №	R	Кол-во ноцицептивных взятий воды 5 мг/кг	Общая двигат. активность (суммарное кол-во двигат. актов) (5 мг/кг)	Общая двигат. активность (суммарное кол-во двигат. актов) (10 мг/кг)	Нейролептическая активность (с) через 120 мин (с)	Угнетение апоморфин-стереотипного поведения (%)
1	H	$14,4 \pm 3,3$	$6,0 \pm 1,3^*$	$0,3 \pm 0,1^*$	$840 \pm 27,2^*$	$75,0^*$
2	<i>o</i> -Cl	$5,1 \pm 1,7^*$	$3,4 \pm 0,3^*$	$0,5 \pm 0,2^*$	$2162 \pm 36,1^*$	$86,0^*$
3	<i>m</i> -Cl	$33,0 \pm 6,4^*$	$4,1 \pm 0,9^*$	$1,8 \pm 0,5^*$	$1137 \pm 63,7^*$	$33,7^*$
4	<i>o</i> -CH ₃	$4,8 \pm 2,2^*$	$3,2 \pm 0,7^*$	$0,8 \pm 0,3^*$	$726 \pm 21,6^*$	$50,0^*$
5	<i>m</i> -CH ₃	$47,7 \pm 5,3^*$	$4,0 \pm 0,8^*$	$2 \pm 1,2^*$	$1200 \pm 44,9^*$	$86,5^*$
Галоперидол	-	-	-	$0,2 \pm 0,1^*$	$4200 \pm 41,8^*$	$90,0^*$
Буспирон (10 мг/кг)	-	$50,1 \pm 5,2^*$	-	$19 \pm 2,7^*$	$4 \pm 1,6^*$	$4,0^*$
Контроль	-	$15,3 \pm 2,9$	$25 \pm 2,2$	$25 \pm 2,2$	0-0,5	0,0

Примечание. * – при $P \leq 0,05$

мещенные производные **3** и **5**, а *орто*- замещенные производные **2** и **4** снижали количество наказуемых взятий воды. При введении всех соединений в дозе 10 мг/кг анксиолитический эффект вообще не наблюдался (табл. 2).

Возможно, это связано с узким «терапевтическим окном», когда дальнейшее повышение дозы соединения приводит к резкому снижению фармакологического эффекта, что отмечается и при изучении седативной активности. Отмеченные нами факты требуют дальнейшего расширенного изучения.

Изучение нейролептических свойств веществ через 120 мин после их введения позволяет выявить соединения, проявляющие пролонгированное антипсихотическое действие. Длительность каталепсии, вызванной соединениями **2**, **3** и **5**, составила 2162, 1137 и 1200 с, соответственно, и заметно меньше – соединениями **1** и **4**, в то время как у галоперидола этот показатель составлял 4200 с (табл. 2).

Все изученные нами соединения в дозе 10 мг/кг в различной степени устраняли стереотипное поведение животных, вызванное введением апоморфина (0,75 мг/кг). Анализ полученных данных по антипсихотическому действию и влиянию на апоморфин-стереотипное поведение животных свидетельствует о том, что они на 35-90% угнетали апоморфиновую стереотипию у крыс (табл. 2). Следует отметить, что соединения **2** и **5** угнетали стереотипное поведение на уровне галоперидола. Известно, что последний является блокатором дофаминовых D₂- рецепторов ЦНС [24].

Все изученные соединения являются менее токсичными, чем галоперидол и буспирон, их LD₅₀ ≥ 300 мг/кг. LD₅₀ галоперидола = 126 мг/кг, LD₅₀ буспирона = 136 мг/кг.

Результаты исследования показали, что арилпиперазины с терминальным норборненовым фрагментом являются высокоаффинными лигандами серотониновых 5-HT_{1A} и дофаминовых D₂ рецепторов. Их фармакологический профиль включает седативные, антипсихотические и анксиолитические свойства, выраженные в различной степени в зависимости от структуры арильного радикала и дозы соединений.

Экспериментальная часть

Исследования проводились на белых беспородных крысах самцах массой 180-200 г (разведение вивария Одесского национального университета). Животные содержались на стандартном рационе питания.

Синтез, структура и аффинитет соединений **1-5** к 5-HT_{1A} рецепторам описаны ранее [15].

Аффинитет исследуемых соединений к рецепторам определяли методом радиолигандного ана-

лиза. Измерение радиоактивности проводили на сцинтилляционном счетчике Rackbeta-1219 (LKB, Швеция). Синаптическую фракцию мембран головного мозга крыс получали аналогично [20]. В качестве конкурентного лиганда использовали [³H]спиперон (Perkin-Elmer). Инкубацию проводили в буфере состава 50 mM трис-HCl, 50 mM Na₂HPO₄, 50 mM KH₂PO₄, 0,1% аскорбиновой кислоты (pH 7,4 4°C). Суспензия синаптических мембран, использованная в эксперименте, содержала 35 mg/ml влажных мембран. Для выявления неспецифического связывания радиолиганда пробы инкубировали в присутствии 1000 nM холодного галоперидола. Для маскирования 5-HT₂ рецепторов инкубацию проводили в присутствии 5 nM кетансерина. Для определения ингибирующей концентрации IC₅₀ использовали 8 концентраций тестируемого лиганда от 0,1 nM до 1000 nM. Константу ингибирования K_i определяли по формуле Ченга-Пруссофа.

Анксиолитическую активность изучали по методу «Конфликтная ситуация» при столкновении питьевого и оборонительного рефлексов в момент потребления воды из поилки. Критерием оценки анксиолитического эффекта было увеличение числа актов потребления воды животными, несмотря на «наказуемое» ноцицептивное (электроболевое) раздражение. Количество актов потребления воды учитывалось в течение 15-минутного интервала. Ноцицептивное раздражение проводилось через электроды, вмонтированные в пол экспериментальной камеры (переменный ток 50 Гц, 50 В) [21]. Седативную активность оценивали по снижению спонтанной двигательной активности животных, используя методику «Открытое поле». Количественным показателем её служила сумма элементарных двигательных актов: число вставаний на задние лапы (вертикальная двигательная активность), переходов с квадрата на квадрат (горизонтальная двигательная активность) и заглядываний в отверстия (норковый рефлекс) [22]. Координацию движений оценивали по методу залезания на сетку [23]. Нейролептическую активность изучали по методу индукции каталепсии «Восковая гибкость» [24]. Регистрировали время (с) застывания животного в приданной ему позе через 120 мин. Влияние на стереотипное поведение крыс, вызванное введением агониста D₂ рецепторов апоморфина, изучали по методу апоморфиновой стереотипии [25]. Острую токсичность определяли по методу [26]. Статистическую обработку данных (обсчет средних величин, ошибок средних величин, коэффициента корреляции, критерия Стьюдента) проводили с использованием программы «Microsoft Excel» для Windows-2000.

Литература

1. Wu Y.H., Smith K.R., Kissel J.W. et al. // *J. Med. Chem.* – 1969. – Vol. 12, №5. – P. 876.
2. Lopez-Rodriguez M.L., Ayala D., Benhamu B. et al. // *Curr. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 9. – P. 443.
3. Андронати С.А., Макан С.Ю. Азотистые гетероциклы и алкалоиды. – М.: Ирридиум – Пресс, 2001. – Т. 1. – С. 20-30.
4. Glennon R.A. // *Drug Dev. Res.* – 1992. – Vol. 26. – P. 251.
5. Caliendo G., Santagada V., Perissutti E. et al. // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12, №15. – P. 1721.
6. Boer J.A., Bosker F.J., Slaap B.R. // *Hum. Psychopharmacol.* – 2000. – №15. – P. 315.
7. Jordan S., Koprivica V., Chen R. et al. // *Eur. J. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 144. – P. 137.
8. Tunncliffe G. // *Pharmacol. Toxicol.* – 1991. – Vol. 69. – P. 149.
9. Barradel L.B., Fitton A. // *CNC Drugs.* – 1996. – Vol. 5, №2. – P. 147.
10. Boronowska A., Les A., Chilmonczyk Z. et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2001. – Vol. 9. – P. 881.
11. Strzelczyk A.A., Jaronczyk M., Chilmonczyk Z. et al. // *Biochem. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 67. – P. 2219.
12. Lopez-Rodriguez M.L., Vicente B., Deupi X. et al. // *Mol. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 62. – P. 15.
13. Lopez-Rodriguez M.L., Morcillo M.J., Fernandez E. et al. // *J. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 48. – P. 2548.
14. Nowak M., Kolaczowski M., Bojarski A.I. // *J. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 49. – P. 205-214.
15. Strange P.G. // *Biochem. Soc. Trans.* – 1996. – Feb. 24 (1). – P. 188-192.
16. Макан С.Ю., Цимбал Д.И., Соболева С.Г. // *ЖОХ.* – 2009. – Т. 79, вып. 2. – С. 303-307.
17. Kuzmin V.E., Artemenko A.G., Polischuk P.G. et al. // *J. Mol. Model.* – 2005. – Vol. 11. – P. 457-467.
18. Поліщук П.Г., Кузьмін В.Є., Артеменко А.Г. та ін. // *Вісник Одеського національного університету. Серія Хімія.* – 2007. – Т. 12 (1-2). – С. 5-14.
19. Kuzmin V.E., Polischuk P.G., Artemenko A.G. et al. // *SAR QSAR Environ. Res.* – 2008. – Vol. 19. – P. 213-244.
20. Поліщук П.Г., Кузьмін В.Є., Артеменко А.Г. та ін. // *Доп. Нац. акад. наук України.* – 2008. – №3. – С. 138-144.
21. Howard H.R., Lowe J.A. III, Seeger T.F. et al. // *J. Med. Chem.* – 1998. – Vol. 39. – P. 143-148.
22. Dewar K.M. // *J. Pharmacol. Experiment. Therap.* – 1989. – Vol. 250, №2. – P. 696-706.
23. Андронати С.А., Соболева С.Г., Голтуренко А.В. и др. // *Хим.-фарм. журн.* – 2002. – Vol. 36, №11. – С. 15-17.
24. Карасьова Т.Л., Соболева С.Г., Костенко К.А. та ін. // 2002. – №3-4. – С. 78-80.
25. Воронина Т.А., Вихляев Ю.И., Неробкова Л.Н. и др. Феназепам. – К.: Наук. думка, 1982. – С. 43-49.
26. Thompson Em. B. *Drug Bioscreening.* – New York: Weinheim Basel Cambridge., 1990.
27. Silcock S.R. *Toxicological testing and the LD₅₀ test* // *РЖБхим.* – 1982. – №15, Реф. 15Я14. – С. 33-53.

Надійшла до редакції 31.10.2013 р.