

УДК 615.015.11:547.7/9

ПРОИЗВОДНЫЕ [(N-АРИЛ)ПИПЕРАЗИНИЛ] БУТИЛПИРИМИДИНОВ, ОБЛАДАЮЩИЕ НЕЙРОТРОПНЫМИ И АКТОПРОТЕКТОРНЫМИ СВОЙСТВАМИ

С.А.Андронати¹, С.Г.Соболева², А.В.Замковая¹, Т.Л.Карасёва¹, И.М.Ракипов¹, Д.И.Цимбал¹

¹ Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины

65080, г. Одесса, Люстдорфская дорога, 86. E-mail: pci.odessa@gmail.com

² Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова

Ключевые слова: арилпиперазины; пиримидины; аффинитет; 5-HT_{1A} рецепторы; нейротропные и актопротекторные свойства

Синтезированы потенциальные лиганды 5-HT_{1A} рецепторов – арилпиперазины, содержащие в качестве терминальных фрагментов остатки тетрагидропиримидинов, соединения (1-6) и дигидропиримидина (7). Структуры соединений 1-7 были подтверждены методами ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектроскопии ¹H-ЯМР. Вещества 2, 3, 4 и 7 ингибировали специфическое связывание радиолганда [³H]8-OH-DPAT с 5-HT_{1A} рецепторами и обладали аффинитетом к этим рецепторам. По тесту конфликтной ситуации соединения 1-5 и 7 проявили анксиолитические свойства. При этом фенилпиперазинил- и о-толилпиперазинилбутил-4-метил-5-изо-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тио-6-оны (1 и 2) по уровню анксиолитической активности превзошли известный препарат буспирон. Отсутствие этого вида активности у соединения 6, по-видимому, обусловлено различием заместителей у атома N1 пиримидинового ядра соединения 6 и остальных соединений этого ряда. Изучение актопротекторной активности в условиях гипертермии показало, что соединения 1-7 по продолжительности плавания превосходили препарат сравнения бемитил. Для всех соединений были определены дозы ED₅₀, которые находились в интервале от 0,04 до 1,0 мг/кг. Самое активное соединение 3 в дозе ED₅₀ 0,04 мг/кг в 2,2 раза (на 122%) увеличивает продолжительность плавания крыс по сравнению с бемитилом. Некоторые соединения в дозе 15 мг/кг проявили антигипоксическую активность на моделях гемической (соединения 2-4, 7) и нормобарической гипоксии (соединения 1, 2, 6) и превосходили по активности бемитил (33,5 мг/кг). Синтезированные соединения малотоксичны, значения их LD₅₀ – 150-250 мг/кг.

[(N-ARYL)PIPERAZINIL]BYTHYLPYRIMIDINE DERIVATIVES WITH NEUROTROPIC AND ACTOPROTECTIVE PROPERTIES

S.A.Andronati, S.G.Soboleva, A.V.Zamkova, T.L.Karasyova, I.M.Rakipov, D.I.Tsymbal

Key words: arylpiperazine; pyrimidines; affinity; 5-HT_{1A} receptors; neurotropic and actoprotective properties

In this study the potential ligands of 5-HT_{1A} receptors – arylpiperazines containing the residues of tetrahydropyrimidine as terminal fragments, compounds (1-6) and dihydropyrimidine – (7) have been synthesized. The structures of compounds 1-7 have been confirmed by IR-spectroscopy, mass spectrometry and ¹H-NMR-spectroscopy. Substances 2, 3, 4 and 7 inhibit the specific binding of the radioligand [³H]8-OH-DPAT with 5-HT_{1A} receptors; it has been found that they have a pronounced affinity for these receptors. In the conflict situation test compounds of 1-5 and 7 showed anxiolytic properties, whereas phenylpiperazinil- and o-tolylpiperazinilbutyl-4-methyl-5-izopropyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-2-thio-6-ones (1 and 2) exceeded the known drug buspirone by the level of the anxiolytic activity. The absence of this activity in compound 6 is probably due to the differences of substituents at N1 atom of the pyrimidine nucleus of compound 6 and other compounds of this series. It has been shown that on the model of hyperthermia all of these compounds in the dose range of 0.04-0.1 mg/kg possessed a high actoprotective activity increased the rat capacity work by 1.4-2.5 times compared to the control. The most active compound 3 in the ED₅₀ dose of 0.04 mg/kg increased the duration of swimming in rats by 2.2 times (122%) compared to bemithylum. Some of the compounds (15 mg/kg) showed antihypoxic activity on the models of hemic (compounds 2-4, 7) and normobaric hypoxia (compounds 1, 2, 6) and exceeded bemithylum (33.5 mg/kg) by their activity. The compounds synthesized are low toxic with the LD₅₀ value of 150-250 mg/kg.

ПОХІДНІ [(N-АРИЛ)ПІПЕРАЗИНІЛ]БУТИЛПІРИМІДИНІВ, ЯКІ ВОЛОДІЮТЬ НЕЙРОТРОПНИМИ ТА АКТОПРОТЕКТОРНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

С.А.Андронати, С.Г.Соболева, А.В.Замкова, Т.Л.Карасьова, І.М.Ракипов, Д.І.Цимбал

Ключові слова: арилпиперазины; пиримидины; аффинитет; 5-HT_{1A} рецептори; нейротропні та актопротекторні властивості

Синтезовані потенційні ліганди 5-HT_{1A} рецепторів – арилпиперазины, які в якості термінальних фрагментів мали залишки тетрагідропіримідинів, сполуки (1-6) та дигідропіримідину (7). Структури сполук 1-7 були підтверджені методами ІЧ-спектроскопії, мас-спектрометрії та спектроскопії ¹H-ЯМР. Речовини 2, 3, 4 та 7 інгібували специфічне зв'язування радіоліганду [³H]8-OH-DPAT з 5-HT_{1A} рецепторами і мають виразний аффинітет до цих рецепторів. За тестом конфліктної ситуації сполуки 1-5 та 7 проявили анксиолітичні властивості. При цьому фенілпиперазиніл- та о-толілпиперазинілбутил-4-метил-5-ізо-пропіл-1,2,3,6-тетрагідропіримідин-2-тіо-6-они (1 та 2) за рівнем анксиолітичної активності пе-

ревершили відомий препарат бупірон. Відсутність цього виду активності у сполуки **6**, мабуть, обумовлена відмінністю замісників у атома N1 піримідинового ядра сполуки **6** та решти сполук цього ряду. Вивчення актопротекторної активності в умовах гіпертермії показало, що всі сполуки за тривалістю плавання перевищували препарат порівняння бемітил. Для всіх сполук були визначені дози ED_{50} , які знаходились в інтервалі від 0,04 до 1,0 мг/кг. Показано, що найбільш активною серед вивчених речовин була сполука **3**, яка в дозі ED_{50} 0,04 мг/кг у 2,2 рази (на 122%) збільшувала тривалість плавання щурів порівняно з бемітилом. Деякі сполуки у дозі 15 мг/кг проявили антигіпоксичну активність на моделях гемічної (сполуки **2-4**, **7**) та нормобаричної гіпоксії (сполуки **1**, **2**, **6**) і перевищували за активністю бемітил (33,5 мг/кг). Синтезовані сполуки є малотоксичними, значення їх LD_{50} – 150-250 мг/кг.

Серотонінергическая система ЦНС характеризуется чрезвычайной гетерогенностью рецепторов серотонина – разнообразием их типов и подтипов.

Лиганды серотониновых рецепторов представляют большой интерес в качестве перспективных биологически активных соединений: анксиолитиков, нейрелептиков, антидепрессантов, гипноседативных, анальгетических, антимигреновых средств, стимуляторов когнитивных процессов и др. [1].

Наиболее изучены рецепторы субпопуляции $5-HT_{1A}$. В значительной степени интерес к $5-HT_{1A}$ рецепторам и их лигандам был стимулирован открытием и внедрением в медицинскую практику бупирона – анксиолитика нового поколения, обладающего оригинальным фармакологическим спектром [2] (рис. 1).

В отличие от анксиолитиков 1,4-бенздиазепинового ряда бупирону и его аналогам (ипсапирону, гепирону, тандоспирону, флезиноксану и др.) не характерны миорелаксантные, противосудорожные, снотворные свойства, являющиеся нежелательными побочными эффектами анксиолитиков в ряде ситуаций. Расширение арсенала анксиолитиков, включающих селективные анксиолитики, препаратов короткого и пролонгированного действия, обладающих несколькими полезными свойствами и максимально лишенных токсичных проявлений и нежелательных побочных эффектов, несомненно, позволит повысить эффективность и безопасность нейротропных средств.

Бупириноподобные вещества – лиганды $5-HT_{1A}$ рецепторов соединения различной структуры. Наиболее широко представлены среди них гетарил (арил)пиперазины типа I [3-8].

Гетарил(арил)пиперазиновый фрагмент А считается основным структурным фрагментом, ответственным за связывание соединений I с $5-HT_{1A}$ рецептором. Спейсер В (от 2 до 6 метиленовых групп, чаще всего 4) соединяет фрагмент А с терминальным фрагментом С. По своей структуре терминальные фрагменты обычно являются остатками имидов или амидов (гетероциклических или иных имидов либо амидов) (рис. 2).

Предполагалось, что терминальный фрагмент С способствует образованию супрамолекулярного комплекса «лиганд-рецептор» и его стабилизации [9]. Есть основания считать, что некоторые фрагменты

С также могут генерировать дополнительные фармакологические эффекты. Так, например, нами было показано, что арилпиперазинилбутилбарбитуровые кислоты II обладают выраженным аффинитетом к $5-HT_{1A}$ рецепторам, анксиолитической активностью, а также проявляют гипноседативные и противосудорожные свойства, характерные для веронала и люминала [10, 11] (рис. 3).

Ранее в ряду аминоалкилмеркаптобарбитуровых кислот были обнаружены высокоактивные антигипоксиканты, обладающие рядом свойств, характерных для актопротекторов (стимуляторов умственной и физической работоспособности в экстремальных условиях) [12-14].

Представитель этого ряда изотиобрамин ($R^1 = i-C_3H_7$, $R^2 = C_2H_5$, Hal = Cl) был изучен по программе доклинических исследований и проявил себя как перспективное средство профилактики и лечения заболеваний, связанных с нарушениями потребления организмом кислорода (рис. 4).

Изучение веществ с фармакологическим спектром, сочетающим нейротропные и актопротекторные свойства, представляется целесообразным в плане изыскания биологически активных веществ комплексного действия.

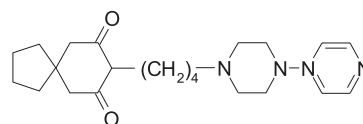


Рис. 1. Структура бупирона.

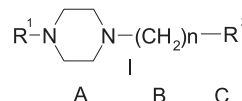


Рис. 2. Структура бупириноподобных веществ.

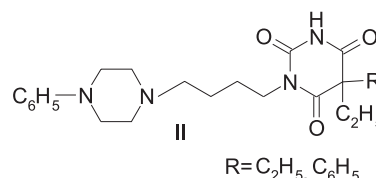


Рис. 3. Структуры арилпиперазинилбутилбарбитуровых кислот.

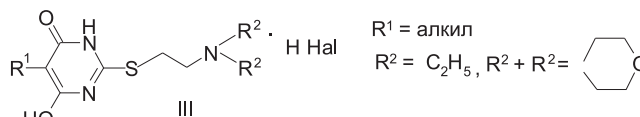


Рис. 4. Структура аминоалкилмеркаптобарбитуровых кислот.

Учитывая особенности фармакологических свойств соединений I-III, в данной работе мы получили потенциальные лиганды 5-НТ_{1А} рецепторов – арилпиперазины, содержащие в качестве терминальных фрагментов остатки тетрагидропиримидинов **1-6** и дигидропиримидина **7** (табл. 1, схема синтеза 1-3). Промежуточными соединениями в синтезе соединений **1-7** являлись 4-метил-5-алкил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-он и 2-тионы, 5-изопропил-2-тионы VII и 5-изопропил-2-(β-диэтиламино)этилмеркапто-1,2-дигидропиримидин-4-ол-2-он VIII. Конденсацией соединений V, VII, VIII с N-(δ-бром)бутиларилпиперазинами в диметилформамиде в присутствии безводного поташа с последующей обработкой продукта спиртовым раствором HCl в среде ацетона были получены гидрохлориды **1-6** и дигидрохлорид **7**. Исходные соединения V и VII получали в условиях, описанных в [15-16], конденсацией производных ацетоуксусного III и малонового VI эфиров с мочевиной либо тиомочевиной или фенилтиомочевиной в соответствии со схемой 1 и 2. Изотиобрамин VIII был синтезирован по методике [12].

Структуры соединений **1-7** были подтверждены методами ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектроскопии ¹H-ЯМР. В ИК-спектрах веществ интенсивные полосы поглощения в области 1635-1669 см⁻¹ соответствуют валентным колебаниям связей C=O амидных фрагментов соединений **1-3, 5-7**. Спектр соединения **4** содержит две интенсивные полосы карбонильной группы, соответствующие симметричным и антисимметричным колебаниям связей C=O, что характерно для имидов [17]. Полосы поглощения в области 1365-1340 см⁻¹ соответствуют валентным колебаниям связей C=S [17] молекул веществ **1-3, 5, 6**, что подтверждается отсутствием в указанной области полосы поглощения соединений **4** и **7**. В спектрах соединений **1, 3, 4, 5, 7** присутствуют полосы поглощения групп NH в области 3328-3359 см⁻¹, а полосы поглощения гидроксильных групп соединений **6** и **7** находятся в области 3421-3423 см⁻¹. Спектры ¹H-ЯМР содержат пики всех типов протонов соединений **1-7** (табл. 1).

Структура изотиобрамина VIII ранее была доказана рентгеноструктурным анализом [14].

Экспериментальная химическая часть

Индивидуальность веществ устанавливали методом ТСХ на пластинах Silufol UV 254 в системе растворителей бутанол : уксусная кислота : вода (3:1:1); проявители УФ, пары йода. ИК-спектры записывали на ИК-спектрометре с преобразованием Фурье Shimadzu FTIR -84009 в таблетках KBr. Спектры ¹H-ЯМР регистрировали на приборе «Bruker» 500 МГц в растворителе DMSO-d₆, внутренний стандарт TMS при 25°C. Масс-спектры элект-

ронного удара регистрировали на масс-спектрометре MX-1321, ионизирующее напряжение – 70 эВ, температура камеры ионизации – 200°C.

4-Метил-5-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2,6-дион (Vb). К суспензии 3 г (0,05 Моль) мочевины и 8,6 г (0,05 Моль) пропилацетоуксусного эфира в 50 мл абсолютного спирта по каплям при перемешивании добавляли алкогольят натрия, приготовленный из 1,1 г (0,05 г – ат) металлического натрия и 50 мл абсолютного спирта. Реакционную смесь нагревали 8-10 часов, основную массу спирта отгоняли, а остаток растворяли в воде. Водный раствор экстрагировали эфиром и подкисляли разбавленной соляной кислотой (1:1) до pH 3. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали холодной водой, сушили и перекристаллизовывали из метанола. Выход составлял 11,0 г (60%). Т. пл. – 247-248°C. Аналогично получали Va и Vc из изопропил- и этилацетоуксусного эфира и тиомочевины.

1-Фенил-5-изопропил-гексагидропиримидин-2-тио-4,6-дион (VII). К алкогольяту натрия, приготовленного из 2,4 г (1 г-ат) натрия в 50 мл абсолютного спирта, при перемешивании добавляли 10,1 г (0,05 Моль) изопропилового эфира и кипятили 10 мин с обратным холодильником, затем добавляли 7,6 г (0,05 Моль) N-фенилтиомочевины. Реакционную смесь, постепенно загустевающую, кипятили 6 ч, добавляли 50 мл воды, фильтровали и подкисляли конц. HCl до pH 4. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали ледяной водой, сушили и перекристаллизовывали из изопропилового спирта. Выход составлял 6,3 г (52%). Т. пл. – 128-130°C.

4-Метил-5-изопропил-1-[4-м-толилпиперазинил-1]-бутил]-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тио-6-он (3). Смесь 0,37 г (0,002 Моль) 5-изопропил-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тио-6-она (Va), 0,62 г (0,02 Моль) м-толилпиперазинилбутилбромида в 15 мл безводного диметилформамида нагревали 18-29 ч в присутствии 1,5 г безводного поташа. После охлаждения реакционную смесь выливали в воду и трижды экстрагировали хлороформом. Хлороформные вытяжки промывали водой и сушили безводным сульфатом магния. Хлороформ отгоняли в вакууме, остаток растворяли в безводном ацетоне, подкисляли спиртовым раствором HCl и оставляли в холодильнике. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали безводным ацетоном и эфиром. Выход составлял 0,37 г (41%). Вещества **1,2,4-7** получены в аналогичных условиях.

Экспериментальная биологическая часть

Опыты проводились на белых беспородных крысах самцах массой 180-200 г и мышах самцах массой 18-22 г. Животные содержались на стан-

Таблица 1

Соединение	Т. пл., °С	Выход, %	Брутто-формула	M ⁺	Спектры ¹ H ЯМР хим. сдвиг, м.д.
N-Арилпиперазинилбутил -1,2,3,6-тетрагидропиримидины*					
1	135-137	64.3	C ₂₂ H ₃₂ N ₄ OS·HCl	401	1.20д (6H, 2CH ₃ (i-C ₃ H ₇)); 1.61м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.80м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.21с (3H, 4-CH ₃); 2.92м (1H, CH(i-C ₃ H ₇)); 3.20 уш.с. (8H, пиперазин) 3.50м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 3.80д. (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 6.69-7.23м (5H, фенил); 11.06 уш.с.(1H, NH).
2	195-198	67.1	C ₂₃ H ₃₄ N ₄ OS·HCl	415	1.20д (6H, 2CH ₃ (i-C ₃ H ₇)); 1.72м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.87м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.25с (3H, 4-CH ₃); 2.30с (3H, o-CH ₃); 2.98м (1H, CH(i-C ₃ H ₇)); 3.15уш.с. (10H, пиперазин+2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 3.80д (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 6.98-7.20м (4H, фенил); 11.21уш.с (1H, NH).
3	190-192	41.0	C ₂₃ H ₃₄ N ₄ OS·HCl	415	1.20д (6H, 2CH ₃ (i-C ₃ H ₇)); 1.72м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.86м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.26с (3H, 4-CH ₃); 2.33с (3H, m-CH ₃); 2.99с (1H, CH(i-C ₃ H ₇)); 3.15уш.с (8H, пиперазин); 3.52д (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 3.77д (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 6.67-7.15м (4H, фенил); 11.10уш.с (1H, NH).
4	180-185	48.0	C ₂₃ H ₃₄ N ₄ O ₂ ·HC	399	0.85тр (3H, CH ₃ (C ₃ H ₇)); 1.35м (2H, CH ₂ (C ₃ H ₇)); 1.55м. (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.75м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.23с (3H, 4-CH ₃); 2.26с (3H, m-CH ₃); 2.32тр. (2H, CH ₂ (C ₃ H ₇)); 3.14уш.с. (8H, пиперазин); 3.52д (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 3.77д (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 6.67-7.15м 4H, фенил); 11.10уш.с (1H, NH).
5	158-160	40.0	C ₂₂ H ₃₂ N ₄ OS·HCl	401	0.97тр (3H, CH ₃ (C ₂ H ₅)); 2.35м (2H, CH ₂ (C ₂ H ₅)); 1.69м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.86 (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.23с (3H, 4-CH ₃); 2.25с (3H, o-CH ₃); 3.15уш.с (8H, пиперазин); 3.49м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 3.84м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 6.70-7.20м (4H, фенил); 11.27с (1H, NH).
6	228-230	39.0	C ₂₇ H ₃₄ N ₄ O ₂ S·HCl	481	1.20д (6H, 2CH ₃ (i-C ₃ H ₇)); 1.60м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.81м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 3.00м (1H, CH(i-C ₃ H ₇)); 3.20уш.с (8H, пиперазин); 3.41м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 3.80д (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 6.87-7.03м (5H, фенил); 7.24-7.41м (5H, фенил); 9.75 уш.с. (1H, OH).
1-(N-о-Толлилпиперазинилбутил)-2-диэтиламиноэтилмеркапто-5-изопропил-4-окси-1,6-дигидропиримидин-6-он					
7	170-175	41.8	C ₂₈ H ₄₅ N ₅ O ₂ S·2HCl	515	1.16д (6H, 2CH ₃ (i-C ₃ H ₇)); 1.24тр. (6H, 2CH ₃ (N(C ₂ H ₅) ₂)); 1.78м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 1.91м (2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 2.25с. (3H, o-CH ₃); 3.07м (1H, CH(i-C ₃ H ₇)); 3.16уш.с. 12H, пиперазин, 2CH ₂ (N(C ₂ H ₅) ₂); 3.33д (2H, >N-CH ₂); 3.51уш.с. (4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂); 4.37тр. (2H, S-CH ₂); 6.08-7.19(5H, фенил); 11.09уш.с. (1H, OH).

* – Структуры соединений на схемах 1-3.

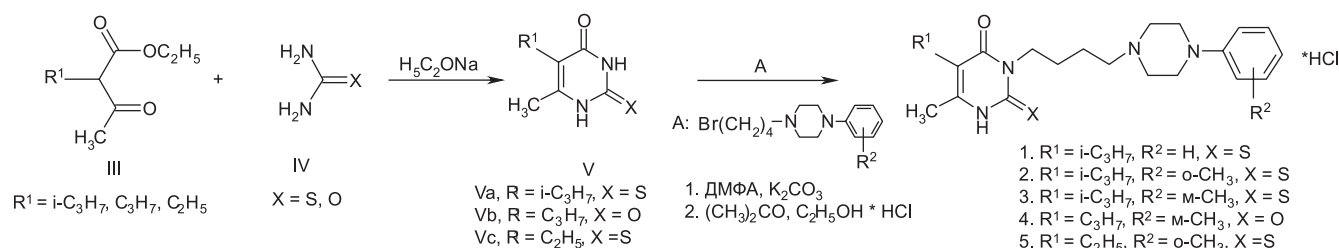


Схема 1. Синтез соединений 1-5.

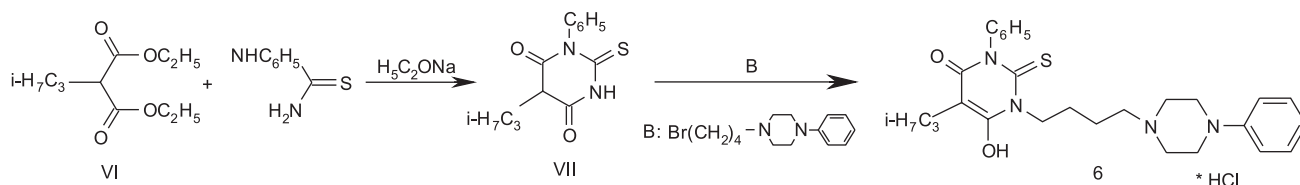


Схема 2. Синтез соединения 6.

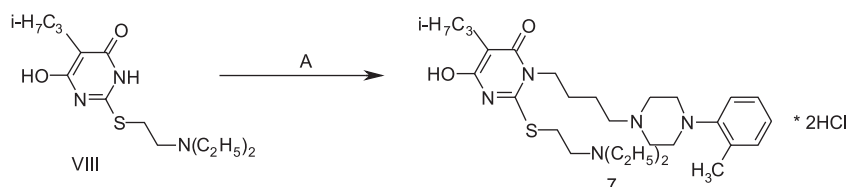


Схема 3. Синтез соединения 7.

дартном рационе в условиях вивария Одесского национального медицинского университета. В качестве препаратов сравнения использовались бупирон (буспар «Bristol Mayers», США) и бемитил (был любезно предоставлен академиком НАН Украины М.О.Лозинским, Институт органической химии НАН Украины) в дозах 10 мг/кг и 33,5 мг/кг, соответственно, за 30 мин до начала экспериментов.

Статистическую обработку данных (обсчет средних величин, ошибок средних величин, коэффициента корреляции, критерия Стьюдента) проводили с использованием стандартного пакета компьютерных программ [18].

Эксперименты на животных выполнены в соответствии с требованием экспериментального протокола European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC), одобренного Animal Ethical Committee of the University of Calgary.

Эксперимент по связыванию соединений 3-5 и 7 с 5-HT_{1A} рецепторами проводили с использованием фракций синаптических мембран переднего отдела мозга крыс и радиолиганда [³H]8-OH-DPAT (Perkin Elmer). Реакцию связывания проводили в буфере инкубации состава 50·10⁻³ Моль/дм³ трис-НCl буфера, 5·10⁻³ Моль/дм³ CaCl₂, 10·10⁻³ Моль/дм³ паргилина, 5% аскорбиновой кислоты, рН 7,6 при 25°C в течение 40 мин. Остановку связывания осуществляли добавлением к пробе 6 см³ ледяного трис-НCl буфера. Пробы быстро фильтровали (не более 10 с) через стекловолоконистые фильтры GF/B на 12-позиционном харвестере. Фильтры промывали 6 см³ ледяного (4°C) 50·10⁻³ Моль/дм³ трис-НCl буфера (рН 7,4). Подсушенные фильтры помещали во флаконы для измерения радиоактивности, заливали 10 см³ сцинтиллятора Optifase, выдерживали в течение суток при 20°C и измеряли радиоактивность на счетчике Rackbeta 1219 Spectral. Для выявления неспецифического связывания радиолиганда пробы инкубировали в присутствии 1·10⁻⁵ моль/дм³ немеченого 8-OH-DPAT, а специфическое связывание определяли как разность между общим и неспецифическим связыва-

нием. Для определения ингибирующей концентрации IC₅₀ использовали 8 концентраций тестируемого соединения в диапазоне 0,1·10⁻⁹-1·10⁻⁶ моль/дм³. Величина неспецифического связывания радиолиганда (SBo) составила <20% от общего. Расчет величин Ki и IC₅₀ проводили линейаризацией S-образной кривой в координатах Клотца.

Анксиолитическую активность изучали на модели конфликтной ситуации, основанной на столкновении двух рефлексов питьевого и оборонительного в момент потребления воды из поилки. Критерием оценки анксиолитической активности служило число наказуемых взятий воды [11].

Общая двигательная активность оценивалась на модели открытого поля. Во время пребывания животных в открытом поле (3 мин) регистрировали число вставаний на задние лапы (вертикальная двигательная активность), число переходов из квадрата в квадрат (горизонтальная двигательная активность), число заглядываний в отверстия. Сумма этих показаний представляет собой общую двигательную активность [19].

Актопротекторную активность изучали на крысах в пробе принудительного плавания в условиях гипертермии (t = 45°C) с дополнительной нагрузкой (10% от массы тела к корню хвоста). Критерием оценки эффекта было увеличение времени плавания крыс в воде по сравнению с контролем [14, 20].

Антигипоксическую активность изучали на модели гипоксической (гиперкапнической) нормобарической гипоксии, которую вызывали помещением мышей в герметически закрытые прозрачные изолированные емкости объемом 200 мл. Наблюдение продолжали до момента гибели животных. Критерием оценки антигипоксической активности являлось время продолжительности жизни мышей [21, 22].

Гемическую гипоксию вызывали подкожным введением нитрита натрия (200 мг/кг). Антигипоксическую активность оценивали количеством выживших животных и по продолжительности жизни мышей по сравнению с контролем [23].

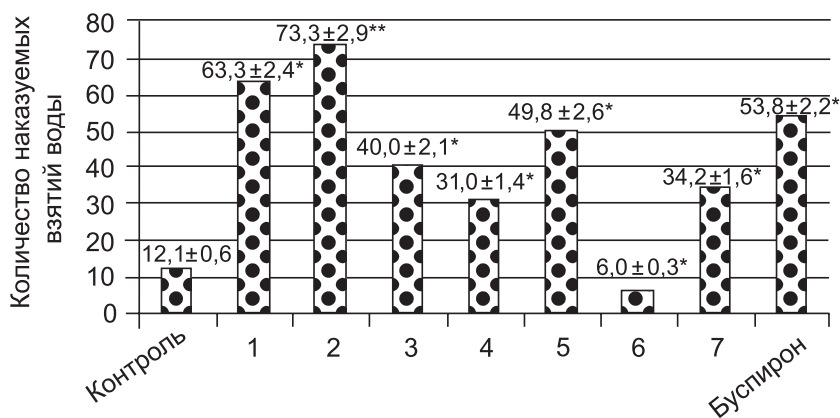


Рис. 5. Анксиолитическая активность соединений (1-7) по методу «Конфликтная ситуация» в опытах на крысах в дозе 10 мг/кг. Примечание: * – при $P \leq 0,05$ к контролю; ** – при $P \leq 0,05$ к буспирону.

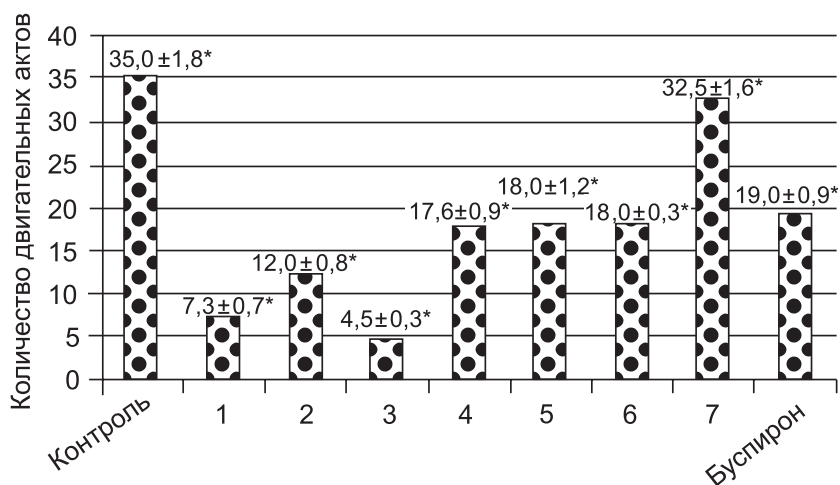


Рис. 6. Общая двигательная активность соединений (1-7) на модели «Открытое поле» в опытах на крысах в дозе 10 мг/кг. Примечание: * – при $P \leq 0,05$ к контролю.

Острую токсичность определяли по методу Литчфилда-Уилкоксона [19].

Результаты и их обсуждение

Изучение способности веществ **2**, **3**, **4** и **7** ингибировать специфическое связывание радиолиганда [^3H]8-ОН-DPAT с 5-HT_{1A} рецепторами показало, что они обладают выраженным аффинитетом к этим рецепторам: величины констант ингибирования K_i , соответственно, $97,02 \pm 10,7$ (**2**), $56,83 \pm 4,01$ (**3**), $40,65 \pm 8,06$ (**4**), $105,73 \pm 6,09$ (**7**) нМ.

Подобно некоторым ранее описанным нами производным арилпиперазинилбутилпиримидинов [14] соединения **1-5** и **7** проявили анксиолитические свойства в тесте конфликтной ситуации (рис. 5). При этом фенилпиперазинил- и *o*-толилпиперазинилбутил-4-метил-5-изо-пропил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-2-тио-6-оны (**1** и **2**) по уровню анксиолитической активности превзошли известный препарат буспирон. В отличие от вышеописанных веществ соединение **6** анксиолитическую активность не проявило. Это, вероятно, связано с различием заместителей в положениях 1 и 3 у этого соединения (фенил- и арилпиперази-

нилбутил, соответственно), тогда как у остальных веществ арилпиперазинильные заместители находятся в положении 1 (рис. 5).

Изучение общей двигательной активности показало, что все изученные соединения за исклю-

Таблица 2

Актопротекторная активность в условиях гипертермии соединений **1-7** на крысах

Соединение	Доза ED ₅₀ (мг/кг)	Время плавления (%) по сравнению с контролем
1	0,5	177,23±7,2**
2	0,1	192,52±8,3**
3	0,04	257,59±12,7**
4	1,0	194,68±3,1**
5	–	–
6	0,75	187,06±4,8**
7	0,35	134,78±4,6
Бемитил	33,5	134,78±2,8
Контроль	–	100±2,2

Примечание: ** – при $P \leq 0,05$ к бемитилу.

Таблиця 3

Антигипоксическая активность в условиях гемической и нормобарической гипоксии соединений **1-7** в дозе 15 мг/кг на крысах, n=10

Соединение	Доза (мг/кг)	Нормобарическая гипоксия (продолжительность жизни мышей), %	Гемическая гипоксия (NaNO ₂ = 200 мг/кг)	
			продолжительность жизни мышей, %	количество выживших животных
1	15	476,2±19,7**	93,0±4,9	6
2	15	98,0±7,9	137,0±3,8*	5
3	15	558,4±22,6**	210,0±9,2**	10
4	15	104,5±5,8	144,0±5,5*	7
5	15	84,4±3,9	80,4±4,1	1
6	15	200,5±8,1*	90,0±4,3	4
7	15	99,3±6,1	125,0±5,9*	4
Бемитил	33,5	250,0±9,9*	150,0±8,2*	5
Контроль	–	100,0±3,1	100,0±2,4	1

Примечание: * – при P≤0,05 к контролю; ** – при P≤0,05 к бемитилу.

чением **7** проявили более или менее выраженные седативные свойства (рис. 6).

Известно, что одной из существенных особенностей действия актопротекторов является их способность сохранять высокую физическую работоспособность в условиях экстремальных нагрузок [14, 24]. Изучение актопротекторной активности в условиях гипертермии показало, что все изученные нами соединения по продолжительности плавания превосходили препарат сравнения бемитил (табл. 2). Для всех соединений были определены дозы ED₅₀, которые устанавливались по кривой доза-эффект и находились в интервале от 0,04 до 1,0 мг/кг (табл. 2). Показано, что наиболее активным среди изученных веществ оказалось соединение **3**, содержащее *m*-CH₃ в арилпиперазиновой части молекулы и изопропиловый заместитель в терминальном фрагменте, которое в дозе ED₅₀ 0,04 мг/кг в 2,2 раза (на 122%) увеличивает продолжительность плавания крыс по сравнению с бемитилом (ED₅₀ = 33,5 мг/кг). Соединения (**1, 2, 6**) также превосходили по актопротекторной активности бемитил с ED₅₀ 0,1-1,0 мг/кг и на 42-60% увеличивали время плавания животных в горячей воде по сравнению с бемитилом (табл. 2).

Как было показано ранее, соединения с актопротекторной активностью проявляют также выраженную антигипоксическую активность [14, 22] на различных моделях гипоксических состояний [25].

При изучении антигипоксических свойств соединений **1-7** в условиях нормобарической гипоксии в дозе 15 мг/кг установлено, что соединения **1, 3** и **6**, в 3,8, 2 и 4,6 раза соответственно, увеличивали продолжительность жизни мышей по сравнению с контролем (табл. 3). Следует отметить, что только соединения **1** и **3** в дозе 15 мг/кг, в 1,9 и 2,2 раза, соответственно, превосходят по антигипоксической

активности референс-препарат бемитил. Остальные соединения (**2, 4, 5** и **7**) этого ряда на данной модели не проявили антигипоксической активности.

Изучение антигипоксических свойств в условиях гемической гипоксии, в основе которой лежит угнетение тканевого дыхания и метгемоглобинемия, показало, что соединения (**2-4, 7**) в дозе 15 мг/кг увеличивали продолжительность жизни мышей на 25-110% по сравнению с контролем, а соединение **3** (15 мг/кг) на 60% увеличивало продолжительность жизни животных по сравнению с бемитилом (33,5 мг/кг) (табл. 3).

Следует отметить, что в дозе 15 мг/кг соединения **3** и **4** на 100 и 70%, соответственно, защищали от гибели животных при введении им нитрита натрия, тогда как референс-препарат бемитил (33,5 мг/кг) – на 50%.

Изучение острой токсичности по методу Литчфилда-Уилкоксона показало, что их LD₅₀ составляет 150-250 мг/кг.

Выводы

1. Установлено, что синтезированные производные арилпиперазина с пиримидиновым терминальным фрагментом, соединения **1-7** обладают бимодальным эффектом, включающим в себя как анксиолитические, так и актопротекторные свойства в зависимости от дозы.

2. Обнаружено, что соединения **1-5, 7** в дозе 10 мг/кг проявляют выраженную анксиолитическую активность, а соединения **1, 3** и **7** по анксиолитической активности не только не уступают, но и превышают препарат сравнения буспирон. В отличие от вышеописанных веществ соединение **6** анксиолитическую активность не проявило. Это, вероятно, обусловлено различием заместителей у атома N1 пиримидинового ядра соединения **6**.

3. Среди новых производных арилпиперазина, содержащих пиримидиновый терминальный фрагмент, обнаружены соединения, обладающие высокой актопротекторной активностью (ED_{50} 0,04-1,0 мг/кг), которые в зависимости от структуры в условиях гипертермии увеличивают в

1,4-2,2 раза продолжительность плавления крыс по сравнению с бемитилом (ED_{50} 33,5 мг/кг). Все изученные соединения по антигипоксической активности превышали референс-препарат бемитил как по дозе, так и по выраженности эффекта.

Литература

1. Peroutka S. J. *Pharmacol. Rev.*, 1991, Vol. 43, No.4, pp.579-586.
2. New J. S. *Med. Res. Rev.*, 1990, Vol. 10(3), pp.283-326.
3. Casnalosi, Schweizer E., Case W. G., Rickels K. J. *Clin. Psychopharmacol.*, 1987, Vol. 7, No.1, pp.31-33.
4. Glennon R. A., Naiman N. A., Pierson M. E. et al. *Drug Dev. Res.*, 1989, Vol. 16, pp.335-343.
5. Forster E. A., Cliffe I. A., Bill D. J. et al. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995, Vol. 281, No.1, pp.81-88.
6. Cliffe I. A., Brightwell C. L., Fletcher A. et al. *J. Med. Chem.*, 1993, Vol. 36, pp.1509-1510.
7. Bermawo M. E., Raghupathi R., Ingher S. P. *J. Med. Res.*, 1992, Vol. 2, pp.88-95.
8. Grychowska K., Masurier N., Verdié H., Satała G., Bojarski A. J., Martinez J., Pawłowski M., Subra G., Zajdel P. *Chemical Biology & Drug Design*, 2015, Vol. 86, issue 4, pp.697-703. Doi: 10.1111/cbdd.12539
9. Chilmonec Z., Szelejewska-Wozniakowska A., Cybulski J. et al. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 1997, Vol. 330, pp.146-160.
10. Andronati S. A., Makan S. Yu., Kolodeev G. E., Berezhnoy D. S. *Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal – Chemical-pharmaceutical journal*, 2003, Vol. 35, No.11, pp.11-14.
11. Karaseva T. L., Golturenko A. V., Makan S. Yu. et al. *Voprosy biologicheskoy, medicynskoy i farmatsevticheskoy khimii – Issues of medical and pharmaceutical chemistry*, 2005, No.3, pp.25-27.
12. Bogatsky A. V., Andronati S. A., Litvinova L. A. et al. *Pat. 1263 Ukraine, Opubl.: 30.12.93; Oficialny bulletin. "Promyslova vlasnist" – Official bulletin "Industrial property"*, 1993, No.3.
13. Soboleva S. G., Gerasimenko I. F., Kravchuk L. G. et al. *Doklady NAN Ukrainy, Reports NAN of Ukraine*, 1992, Vol. 327, No.3, pp.349-353.
14. Soboleva S. G., Andronati S. A., Karaseva T. L. et al. *Doklady NAN Ukrainy, Reports NAN of Ukraine*, 2013, No.2, pp.119-124.
15. Aspelund H. *Acta Acad. Aboens., Math et Phys.*, 1958, Vol. 21, No.10, p.20.
16. Baker B. R., Robert E. Schaub, Joseph R. Joseph et al. *J. Org. Chem.*, 1953, Vol. 18, pp.133-137.
17. Bellami A. *Infrakrasnye spetry slozhnykh molekul – (Infrared spectra of complex molecules)*, Moscow: Mir, 1963.
18. Lakin G. F. *Biomertriya (Biometrics)*, High. sch., Moscow 1990. with program "Microsoft Excel" for Windows-2000.
19. Gatsyra V. V. *Metody pervichnogo farmakologicheskogo issledovaniyabiolgicheskii aktivnykh vechestv (Methods primary pharmacological studies of biologically active substances)*, Moscow, 1974, pp.27-28.
20. Strebneva V. M., Davydova V. N., Hasina E. I. et al. *Abstracts of Papers. XI Rossijskij nacionalnyj kongress "Chelovek i lekarstvo" (XI Russian national congress "Man and Medicine")*, Moscow, 2004, pp.831-832.
21. Lukianchuk V. D., Savchenkova L. V., Nemyatyh O. D. et al. *Poshuk i eksperimentalnoe vyvchennya protygiptoksychnykh zasobiv (Search and experimental study of potential antihypoxic compounds)*, Guidelines Kyiv, 2002, p.28.
22. Korablev M. V., Lukienko P. I. *Protivogipoksicheskie sredstva (Antihypoxic agents)*, Minsk: Belarus, 1976, p.189.
23. Karaev A. L., Kozlova G. S., Smirnova T. N. et al. *Eksperimentalnaya i kinicheskaya farmakologiya Experimental and clinical pharmacology*, 2005, Vol. 68, No.6, pp.9-11.
24. Pitkevich E. S., Lozinskiy M. O., Lyzikov A. N. et al. *Bemtil (bemitylum) – antigipoksant, actoprotector: farmakologicheskoe primenenie v medicine (Bemithyl (bemithylum) – antihypoxant, actoprotector: pharmacological effects and clinical applications in medicine)*: Inform. Bul., Kyiv, 2001, p.44.
25. Vinogradov V. M., Krivoruchko B. I. *Psihofarmacologiya i biologicheskaya narcologiya – Psychopharmacology and Biological Narcology*, 2001, Vol. 1, No.1, pp.27-37.

Надійшла до редакції 04.12.2015 р.