



ность новых синтезированных производных пиразола к связыванию с биорецепторами. Нам представилась возможность осуществить эти испытания в рамках договора о научно-техническом сотрудничестве с Университетом Коннектикута в лаборатории Центра открытия лекарств (Centre for Drug Discovery) при уча-

стии профессора А. М. Звонка. Для испытаний было отобрано 10 соединений, среди которых девять (1–9) относятся к производным пиразола, а десятый образец –  $\beta'$ -тозилзамещенные оксиранилкетоны 10, 11. Результаты биологических испытаний представлены на рис. 1–4 и в таблице.

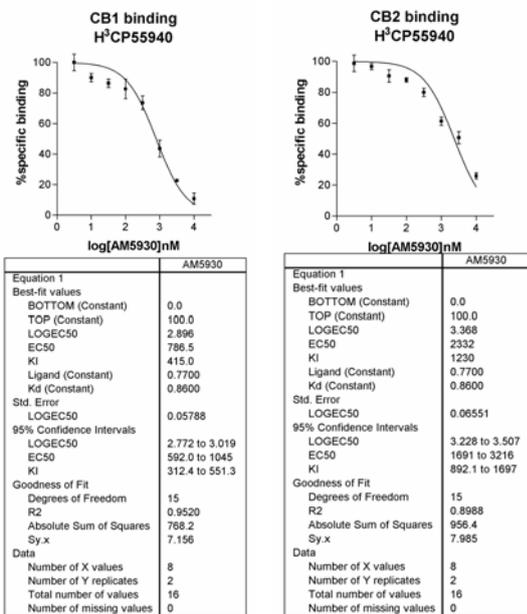


Рис. 1. Изменение специфического связывания [ $^3$ H] CP5940 с CB1 и CB2 рецепторами в присутствии 4-метил-1-тозил-5-тозилгидразино-3-(4-фторфенил)-винил)-4,5-дигидро-1H-пиразола 5

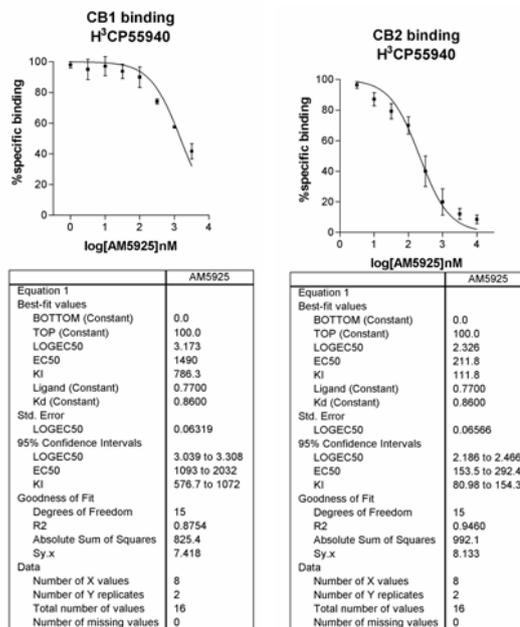


Рис. 2. Изменение специфического связывания [ $^3$ H] CP5940 с CB1 и CB2 рецепторами в присутствии 3-(3-(3-нитрофенил)винил)-1-тозил-5-тозилгидразино-4,5-дигидро-1H-пиразола 6

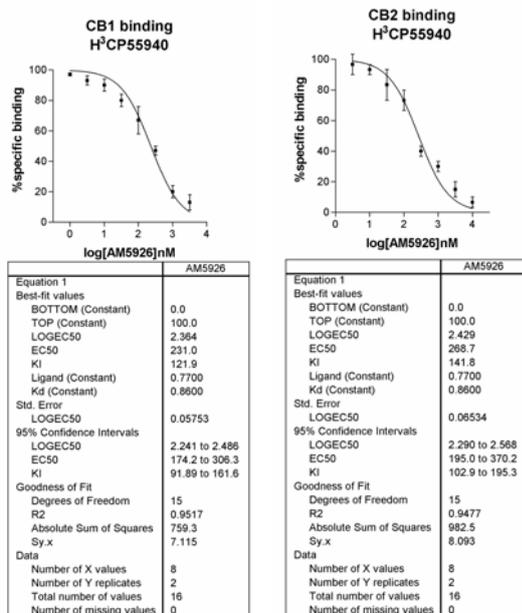


Рис. 3. Изменение специфического связывания [ $^3$ H] CP5940 с CB1 и CB2 рецепторами в присутствии 4-бензоил-5-метил-1-тозил-3-(2-фенилвинил)-1H-пиразола 7

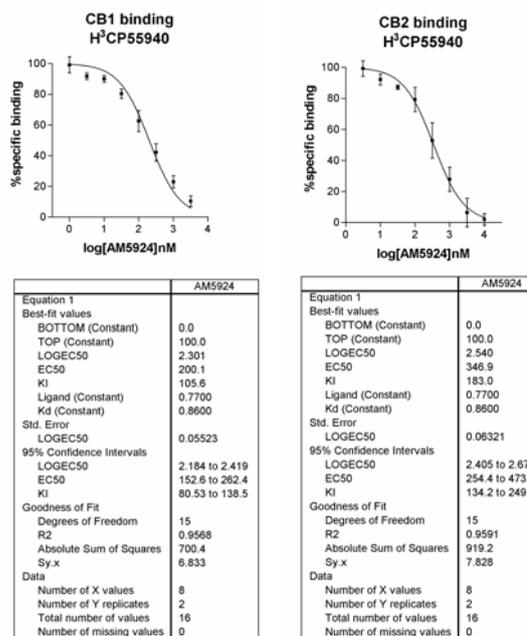


Рис. 4. Изменение специфического связывания [ $^3$ H] CP5940 с CB1 и CB2 рецепторами в присутствии 4-метил-3-(2-фенилвинил)-1H-пиразола 8

## Результаты испытаний соединений 1–9 и 10, 11 на связывание с СВ1 и СВ2 рецепторами

Соединение	Структурная формула	$K_i$ , нМ		СВ1/СВ2
		СВ1	СВ2	
1		4 321	1 032	4,19
2		402,2	1 028	0,39
3		4 863	1 412	3,14
4		911,3	980,6	0,93
5		415,0	1 230	0,34
6		786,3	111,8	7,03
7		121,9	141,8	0,86
8		105,6	183	0,58
9		4 700	2 968	1,56
10, 11		19 286	863,3	22,34

Среди испытанных соединений наилучшие результаты в отношении способности к связыванию с обоими СВ рецепторами продемонстрировали 4-бензоил-1-тозилпиразол **7** и NH-пиразол **8**, в то время как 5-гидрокси-5-фенил-2-пиразолин **3** и пиразолы **1**, **2**, **4** обнаружили низкую активность при отсутствии селективности. Последнее касается и дибромида **9**.

Следует отметить обнаруженные различия в селективности 5-тозилгидразино-2-пиразолинов **5** и **6**: в то время как **6** обладает активностью в отношении СВ2 рецепторов на уровне соединений **7** и **8**, сродство к СВ1 рецептору в 7 раз ниже, чем у этих соединений, тогда как 5-тозилгидразино-2-пиразолин **5** продемонстрировал низкую активность в отношении обоих рецепторов.

Можно отметить также, что среди всех испытанных веществ наибольшую селективность проявил  $\beta$ -тозилкетон **10**, **11**, хотя высокие значения  $K_i$  для этого соединения не дают оснований рассматривать его в качестве перспективного кандидата для последующих исследований.

**Экспериментальная часть.** Соединения, отобранные для испытаний были синтезированы по методикам [7–11].

Для исследования взаимодействия лиганд – рецептор использовался радиолигандный метод, основанный на применении меченных радиоактивными изотопами (третий, иод) синтетических аналогов природных каннабиноидов [12]. Метод дает возможность определять такие параметры, как сродство к рецептору, количество и локализация рецептора в клетке, взаимосвязь между процессами связывания с рецептором и индукцией им биологического ответа клетки. Меченный тритием синтетический неклассический каннабиноид [ $^3\text{H}$ ] CP55940 ( $K_i$  СВ1 = 0,07–4 нМ,  $K_i$  СВ2 = 0,2–7,4 нМ) был использован для оценки значений  $K_i$  СВ1 и СВ2 ряда испытуемых соединений. Для оценки аффинности соединений **1–9** и **10**, **11** к СВ1 рецепторам использовали синапсомембранные мембраны, полученные из замороженного мозга крыс по методу Dodd с сотр. [13], а сродство к СВ2 рецепторам было измерено с использованием мембранных препаратов, приготовленных из замороженной мышины селезенки по методике [14]. Оценку величины  $K_{50}$  производили по вытеснению из этих мембран специфически связанного меченого тритием [ $^3\text{H}$ ] CP55940 изучаемыми лигандами. Пробы далее отфильтровывались на фильтровальных пластинах Packard Filtermate 96 и Whatman GF/C с промыванием буферным 0,5%-ным раствором бычьего сывороточного альбумина. Радиоактивность определялась с применением Packard Instruments Top Count. Данные, полученные от трех независимых экс-

периментов по изменению специфического связывания [ $^3\text{H}$ ] CP55940 от 100 до 0% при регистрируемом содержании CP55940 от 0 до 100 нМ, были обработаны с использованием логистического уравнения с четырьмя параметрами для оценки величин  $\text{IC}_{50}$ , которые преобразованы в  $K_i$  по Cheng и Prussoff [15].

**Заключение.** Таким образом, очевидно, что синтезированные соединения способны связываться с обоими типами СВ рецепторов, однако, обнаруженная активность является недостаточной для практического использования этих веществ в качестве лигандов. Вместе с тем полученные данные расширяют представления о взаимосвязи строения производных ряда пиразола с их биологической активностью и подтверждают перспективность дальнейшего исследования соединений этого класса.

### Литература

1. Орлов, В. Д. Медицинская химия / В. Д. Орлов, В. В. Липсон, В. В. Иванов. – Харьков: Фолио, 2005. – 461 с.
2. Смит, В. Органический синтез. Наука и искусство / В. Смит, А. Бочков, Р. Кейпл. – М.: Мир, 2001. – 573 с.
3. Khanolkar, A. D. Molecular probes for the cannabinoid receptors / A. D. Khanolkar, S. L. Palmer, A. Makriyannis // Chem. Phys. Lipids. – 2000. – № 108. – P. 37–52.
4. Triarylpyrazoles with basic side chains: development of pyrazole-based estrogen receptor antagonists / S. R. Stauffer [et al.] // Bioorg. & Med. Chem. – 2001. – V. 9, № 1. – P. 151–161.
5. Molecular interaction of the antagonist N-(piperidin-1-yl)-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1H-pyrazole-3-carboxamide with the CB1 cannabinoid receptor / J.-Y. Shim [et al.] // J. Med. Chem. – 2002. – V. 45, № 12. – P. 1447–1459.
6. Synthesis, biological properties, and molecular modeling investigations of novel 3,4-diarylpyrazolines as potent and selective CB1 cannabinoid receptor antagonists / J. H. M. Lange [et al.] // J. Med. Chem. – 2004. – V. 47, № 3. – P. 627–643.
7. Ковальчук, Т. А. Реакция 3-арил-1-(2-метилоксиран-2-ил)-проп-2-ен-1-онов с тозилгидразином / Т. А. Ковальчук, Н. М. Кузьменок, А. М. Звонков // ХГС. – 2005. – № 10. – С. 1481–1489.
8. Kuz'menok, N. M. Synthesis of 5-Hydroxy- and 5-Amino-1-Tosyl-5-Phenyl-3-(2-Arylviny)-4,5-dihydropyrazoles / N. M. Kuz'menok, T. A. Koval'chuk, A. M. Zvonok // Synlett. – 2005. – № 3. – P. 485–486.
9. Ковальчук, Т. А. Синтез NH-пиразолов и исследование их способности к солеобразованию / Т. А. Ковальчук, Н. М. Кузьменок // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия и технология органич. в-в. – 2005. – Вып. XIII. – С. 62–64.

10. Ковальчук, Т. А. Реакция 3-арил-1-(2-метилоксиран-2-ил)- и 3-арил-1-(2,3-диметилоксиран-2-ил)проп-2-ен-1-онов с тозилгидразином в спиртах / Т. А. Ковальчук, Н. М. Кузьменок // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия и технология орган. в-в. – 2007. – Вып. XV. – С. 6–10.
11. Ковальчук, Т. А. Рециклизация 3-(2-арилвинил)-5-гидрокси-1-гозил-5-фенил-4,5-дигидропиразолов в реакции с уксусным ангидридом / Т. А. Ковальчук, Н. М. Кузьменок, А. М. Звонок // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. – 2006. – № 2. – С. 54–57.
12. Овчинников, Ю. А. Биоорганическая химия / Ю. А. Овчинников. – М.: Просвещение, 1987. – 815 с.
13. A rapid method for preparing synaptosomes comparison with alternative procedures / P. R. Dodd [et al.] // Brain Res. – 1981. – Vol. 226, № 1. – P. 107–118.
14. Head group analogues of arachidonylethanolamide, the endogenous cannabinoid ligand / D. A. Khanolkar [et al.] // J. Med. Chem. – 1996. – Vol. 39, № 22. – P. 4515–4519.
15. Cheng, Y. C. Relationship between the inhibition constant ( $K_i$ ) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition ( $K_{50}$ ) of an enzymatic Reaction / Y. C. Cheng, W. H. Prusoff // Biochem. Pharm. – 1973. – Vol. 22, № 10. – P. 3099–3102.