

УДК 547.722

С.Г. Михаленок, ассистент; Н.М. Кузьменок, доцент; А.М. Звонко, профессор

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АРИЛЗАМЕЩЕННЫХ 3,4-ДИГИДРО-2Н-ПИРРОЛОВ И 4,5-ДИГИДРО-1Н-ПИРАЗОЛОВ

Results of tests of biological activity of aryl substituted 3,4-dihydro-2H-pyrroles and 4,5-dihydro-2H-pyrazoles serie as ligands of CB1 and CB2 receptors are given.

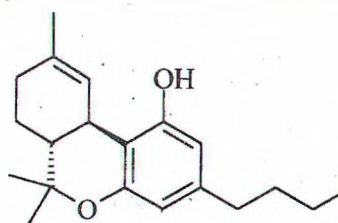
Основой для направленного конструирования молекул с фармакологической активностью является изучение механизма взаимодействия биоактивных веществ на рецепторном уровне. Создание лигандов, специфически взаимодействующих с определенными биорецепторами, позволяет не только продвинуться вперед в решении задач химиотерапии, но и должно способствовать разработке новых подходов при лечении различных заболеваний, профилактики алкоголизма и наркомании. В этой связи поиск биологически активных органических соединений, обладающих высоким сродством, селективностью и обратимостью связывания с биорецепторами, является весьма актуальным.

Среди лекарственных средств растительного происхождения, издавна применяемых для медицинских целей, одним из наиболее известных является смесь природных каннабиноидов, впервые обнаруженных в листьях растения *Cannabis sativa*. Установлена структура главного психофармакологического компонента этой смеси – 6,6,9-триметил-3-пентил-6а,7,8,10а-тетрагидро-6Н-бензо[с]хромен-1-ол ((-)- Δ^9 -ТНС), достаточно неустойчивого соединения, легко изомеризующегося в Δ^8 -ТНС. Каннабиноиды обладают анальгетической, антиконвульсивной, антиэмитической, жаропонижающей активностью, могут применяться для лечения астмы и глаукомы [1]. Многие из указанных биологических эффектов непосредственно связаны с взаимодействием этих соединений с каннабиноидными рецепторами CB1 и CB2, которые были открыты сравнительно недавно (CB1 – 1990, CB2 – 1993). В настоящее время появились предварительные экспериментальные данные о существовании рецептора CB3 [2]. Взаимодействие лиганда с рецептором запускает цепь биохимических реакций, приводящих к характерному ответу клетки.

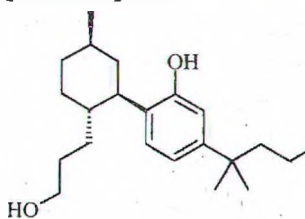
Область каннабиноидных исследований, в которой был достигнут определенный прогресс, охватывает открытие новых классов каннабимиметических лигандов. До открытия каннабиноидных рецепторов множество независимых исследовательских лабораторий и фармакологических производств разрабатывали большое количество синтетических лигандов как для фармакологических и биохимических зондов, так и для создания новых медикаментов. Все синтезированные аналоги относились к классическим каннабиноидам, и многие из них проявили более сильный эффект, чем природные соединения. Однако после открытия каннабиноидных рецепторов появилась возможность целенаправленного синтеза веществ конкретных классов, что привело к разработке структурно более разнообразных аналогов, обладающих схожими фармакологическими свойствами.

Органические соединения, обладающие каннабиноидной активностью, подразделяют по структурным особенностям на шесть классов [3]: 1) классические каннабиноиды; 2) неклассические каннабиноиды; 3) аминокалкилиндолы; 4) арахидоноил этаноламиды; 5) биарилпиразолы; 6) 2-арахидоноил глицерины.

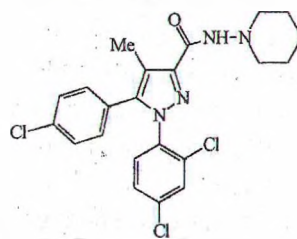
Классические каннабиноиды относятся к гидрированным производным дибензопирана и имеют природное происхождение. К этой же группе относят синтетические производные природных каннабиноидов, а также некоторые аналоги, имеющие модифицированную алифатическую цепь в положении 3. Наиболее подробно исследованы растительные каннабиноиды Δ^9 -THC и Δ^8 -THC, которые наряду с другими видами биоактивности проявляют сильные психотропные свойства. Неклассические каннабиноиды впервые были разработаны американской фармацевтической компанией Pfiser, по строению они сходны с классическими каннабиноидами, однако не содержат пиранового цикла [4]. Их представителем является CP55940, который имеет высокое сродство к CB1 и CB2 рецепторам на нижнем наномолекулярном уровне и проявляет высокие акцепторные свойства к обоим типам рецепторов.



(-)- Δ^9 -THC
 K_i CB1 = 40.7 nM
 K_i CB2 = 36.4 nM



CP 55940
 K_i CB1 = 0.58–5 nM
 K_i CB2 = 0.69–2.55 nM



SR 141716A
 K_i CB1 = 5.6–12.3 nM
 K_i CB2 = >1000 nM

Для исследования взаимодействия лиганд–рецептор широкое распространение получил радиолигандный метод, основанный на использовании меченных радиоактивными изотопами (третий, иод) синтетических аналогов природных каннабиноидов и других каннабимиметиков [5]. Метод дает возможность определять такие параметры, как сродство к рецептору, количество и локализацию рецептора в клетке, взаимосвязь между процессами связывания с рецептором и индукцией им биологического ответа клетки. Меченный тритием [3 H] CP55940 (K_i CB1 = 0.07–4 nM, K_i CB2 = 0.2–7.4 nM) был использован для оценки значений K_i CB1 и CB2 ряда синтезированных полиарилзамещенных производных пиррола и пиразола. Целесообразность испытания именно этой группы соединений обусловлена тем, что упомянутые выше биарилпиразолы (класс 5) проявили высокое сродство к CB1 рецепторам, и некоторые из них, например SR141716A, производятся как коммерческие продукты.

Результаты испытаний 11 синтезированных новых арилзамещенных производных ряда пиразола и пиррола, проведенные в лаборатории Центра открытия лекарств (Center for Drug Discovery, School of Pharmacy) Университета Коннектикут (США, г. Storrs) в рамках научно-технического сотрудничества с БГТУ, приведены в таблице.

Для оценки аффинности соединений **1–11** к CB1 рецепторам использовали синопсомальные мембраны, полученные из замороженного мозга крыс по методу Dodd с сотр. [6], а сродство к CB2 рецепторам было измерено с использованием мембранных препаратов, приготовленных из замороженной мышины селезенки по методике [7]. Для оценки величины K_{50} использовали вытеснение изучаемыми лигандами из этих мембран специфически связанного меченного тритием [3 H] CP55940. Пробы фильтровались далее с применением фильтровальных пластин Packard Filtermate 96 и Whatman GF/C с использованием в качестве промывочного буфера 0.5%-ного раствора бычьего сывороточного альбумина. Радиоактивность определялась с применением Packard

Instruments Top Count. Данные, полученные от трех независимых экспериментов по изменению специфического связывания [^3H] 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 IC_{50} , которые преобразованы в K_i по Cheng и Prussoff [8].

Таблица

Результаты испытаний биологической активности арилзамещенных производных ряда пиразола и пиррола в отношении СВ1 и СВ2 рецепторов

Соединение	Название соединения	K_i , нМ	
		СВ1	СВ2
<u>1</u>	этил 3-[(2,3-диметилоксиран-2-ил)карбонил]-4-(4-нитрофенил)-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол-5-карбоксилат	неспецифичен	836.6
<u>2</u>	[4-(4-бромфенил)-2,5-дифенил-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиразол-3-ил](2-метилоксиран-2-ил)метанон	7372	22500
<u>3</u>	[4-(3-бромфенил)-2,5-дифенил-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиразол-3-ил](2-метилоксиран-2-ил)метанон	560.8	212.0
<u>4</u>	метил 2-{5-[(2-метилоксиран-2-ил)карбонил]-1,3-дифенил-4,5-дигидро-1 <i>H</i> -пиразол-4-ил}бензоат	2721	2262
<u>5</u>	(2-метилоксиран-2-ил)[4-(5-нитро-2-хлорфенил)-2,5-дифенил-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиразол-3-ил] метанон	неспецифичен	747.5
<u>6</u>	(2-метилоксиран-2-ил)[2-(4-нитрофенил)-4,5-дифенил-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиррол-3-ил]метанон	2041	4154
<u>7</u>	(2-метилоксиран-2-ил)[4-(4-бромфенил)-2-(4-нитрофенил)-5-фенил-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиррол-3-ил]метанон	неспецифичен	61.44
<u>8</u>	(2-метилоксиран-2-ил)[2-(4-нитрофенил)-5-фенил-4-(4-хлорфенил)-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиррол-3-ил]метанон	896.9	3471
<u>9</u>	(2-метилоксиран-2-ил)[4-(4-метоксифенил)-2-(4-нитрофенил)-5-фенил-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиррол-3-ил]метанон	неспецифичен	523.9
<u>10</u>	(2-метилоксиран-2-ил)[4-(4-метилфенил)-2-(4-нитрофенил)-5-фенил-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиррол-3-ил]метанон	652.4	2222
<u>11</u>	(2-метилоксиран-2-ил)[2-(4-нитрофенил)-5-фенил-4-(4-этоксифенил)-3,4-дигидро-2 <i>H</i> -пиррол-3-ил]метанон	539.6	268.6

Все испытанные эпоксиалканоилазолы 1–11 обнаружили способность специфического связывания с СВ2 рецепторами, тогда как по отношению к СВ1 рецепторам в отличие от 1,5-диарилпиразолов SR141716A обнаружена относительно меньшая действенность, а 4-бром- и 4-метоксизамещенные пирролины 7, 4 и содержащие нитрогруппу в бензольном ядре пиразолины 1, 5 вовсе не обнаружили способности специфического связывания с СВ1 рецептором. Высокоселективным СВ2 лигандом, по действенности лишь в 1.7 раза уступающим природному (-)- Δ^9 -ТНС, является (2-метилоксиран-2-ил)[4-(4-бромфенил)-2-(4-нитрофенил)-5-фенил-3,4-дигидро-2*H*-пиррол-3-ил]метанон 7. Интересно отметить, что замена брома в *пара*-положении соединения 7 на хлор (соединение 8) приводит к появлению способности блокировать СВ1 рецепторы с умеренной активностью при одновременном снижении специфического связывания СВ2 более чем в 50 раз.

Среди производных пиразола наилучшей способностью в отношении СВ1 и СВ2 связывания проявило соединение 3, хотя эффективность действия этого вещества в 100 раз уступает CP55940 в сродстве к обоим рецепторам.

В целом полученные результаты указывают на целесообразность поиска селективных лигандов CB1 и CB2 рецепторов в ряду триарилзамещенных пирролов и пиразолов и подтверждают тот факт, что незначительные структурные изменения в аналогах известных лигандов могут существенно отозваться на специфичности и действенности их взаимодействия на рецепторном уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Звонок А.М., Макрияннис А. Синтез азаканнабиноид-подобных соединений // Химия и биологическая активность синтетических и природных соединений. Азотистые гетероциклы и алкалоиды: В 2 т. / Под ред. В.Г. Карцева, Г.А. Толстикова. Т. 1. – М.: Иридиум-пресс, 2001. – С. 306–309.
2. Wilson R.I., Nicoll R.A. Endocannabinoid Signaling in the Brain // Science. – 2002. – Vol. 296. – № 5568. – P. 678–682.
3. Khanolkar A.D., Palmer S.L., Makriyannis A. Molecular probes for the cannabinoid receptors // Chem. Phys. Lipids. – 2000. – Vol. 108. – № 1. – P. 37–52.
4. Pertwee R.G. Cannabinoid receptor ligands // Tocris reviews. – 2001. – № 16. – P. 1–8.
5. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – 815 с.
6. A rapid method for preparing synaptosomes comparison with alternative procedures. P.R. Dodd, J.A. Hardy, A.E. Oakley e.a. // Brain Res. – 1981. – Vol. 226. – № 1. – P. 107–118.
7. Head group analogues of arachidonylethanolamide, the endogenous cannabinoid ligand. D.A. Khanolkar, V. Abadji, S. Lin e.a. // J. Med. Chem. – 1996. – Vol. 39. – № 22. – P. 4515–4519.
8. Cheng Y. C., Prussoff W. H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (K_{50}) of an enzymatic Reaction // Biochem. Pharmacol. – 1973. – Vol. 22. – № 10. – P. 3099–3102.

УДК 547.722

С.Г. Михаленок, ассистент; Н.М. Кузьменок, доцент; А.М. Звонок, профессор

ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНАЯ ПЕРЕГРУППИРОВКА 4-АРИЛ-3(5)-АЦЕТИЛ-5(3)-(2-МЕТИЛ-2,3-ЭПОКСИАЛКАНОИЛ)-2-ПИРАЗОЛИНОВ

It is established that primary adducts of 1,3-dipolar cycloaddition reaction of ep-oxyenones with diazoacetone are undergo the Red-Ox rearrangement with participation of the oxirane ring.

Ранее было установлено, что при взаимодействии диазоуксусного эфира с ненасыщенными эпоксикетонами наряду с аддуктами циклоприсоединения по кратной связи, которые представляют собой диастереомерную смесь 4-арил-5-карбэтокси-3-(2,3-эпоксикалконоил)-2-пиразолинов с трансoidalным расположением заместителей в пиразолиновом цикле, образуются продукты внутримолекулярного окислительно-восстановительного диспропорционирования – β -гидроксиалкалконоилпиразолы [1]. Было показано также, что последние могут образовываться из соответствующих диастереомерных пиразолинов при длительном их нагревании или под действием триэтиламина, хотя этот эксперимент указывает лишь на то, что продукты 1,3-дипольного циклоприсоединения образованы из одного первоначального 1-пиразолина и имеют одинаковую региохимию [2]. С целью выяснения структурных факторов эпоксиалкалконоил-