

© Коллектив авторов, 2002

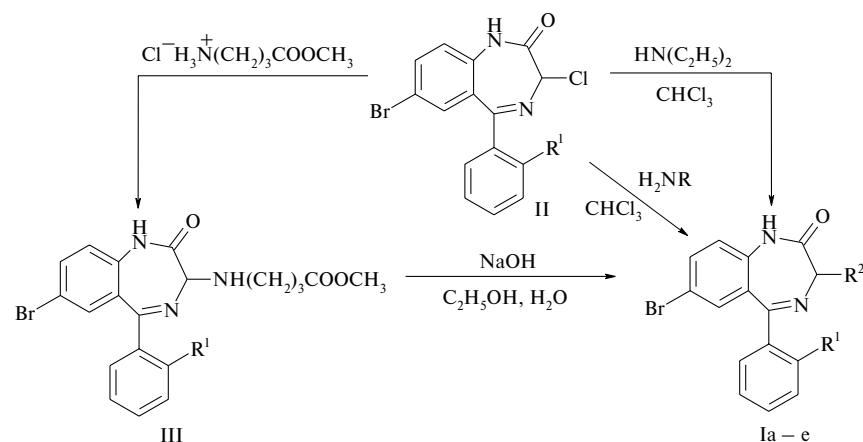
К. С. Андронати, Е. А. Костенко, Т. Л. Карасева, С. А. Андронати

**СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ 3-АМИНО-1,2-ДИГИДРО-3Н-1,4-БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОНА**

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

Производные 3-амино-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов обладают анксиолитическим, противосудорожным, анорексигенным, анальгетическим и другими эффектами. Фармакологические свойства этих веществ обусловлены главным образом связыванием их с бенздиазепиновыми и с холинэстеразинными рецепторами двух подтипов — ССК<sub>1</sub> и ССК<sub>2</sub> [1]. Некоторые из этих соединений (девазепид, L-365,260, L-736,380 и др.) находятся на различных стадиях клинического изучения в качестве потенциальных средств для лечения алиментарного ожирения, а также тревожных и панических состояний различной этиологии [2, 3].

С целью изучения связи между структурой 3-замещенных 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и их психофармакологическими и анорексигенными свойствами нами были синтезированы новые N-замещенные 3-амино-5-арил-7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-оны (I) (табл. 1). Так, взаимодействием 3-хлор-7-бром-5-арил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов (II) с диэтиламиноом или *n*-нитроанилином получены соединения Ia – г. Соединения Id, e, содержащие в положении 3 бенздиазепинового ядра остаток  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК), синтезированы взаимодействием гидрохлорида метилового эфира ГАМК с 3-хлорбенздиазепинами II в присутствии триэтиламина с последующим щелочным гидролизом образовавшихся эфиров III. Структура новых соединений подтверждалась методами ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

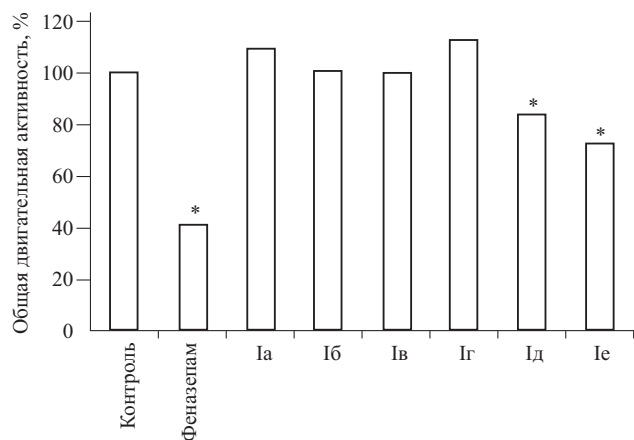
R = (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>NH<sub>2</sub>, *p*-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-NHR<sup>1</sup> = H, Cl; R<sup>2</sup> = N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, NH(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>NH<sub>2</sub>, *n*-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH, NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH.*Экспериментальная химическая часть*

Индивидуальность веществ контролировали методом ТСХ на пластинках “Silufol UV-254” в системе ацетон – бензол – уксусная кислота, 100 : 50 : 1. ИК-спектры растворов соединений в хлороформе регистрировали на ИК-спектрометре “Specord IR-75”. Масс-спектры получены на масс-спектрометре МХ-1321 с энергией ионизирующих электронов 70 эВ при температуре камеры ионизации 200 °С.

**3-(*n*-Нитрофениламино)-7-бром-5-(*o*-хлорфенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он (Iг).** К раствору 2 г (5,2 ммоль) 3-хлор-7-бром-5-(*o*-хлор)фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она (II, R<sup>1</sup> = Cl), полученные по методике [4] в 50 мл безводного хлороформа прибавляют 1,6 г (11,6 ммоль) *n*-нитроанилина. Раствор кипятят при перемешивании 3 ч, после чего фильтруют; фильтрат промывают 10 % раствором HCl, а затем водой до нейтральной реакции и упаривают в вакууме. Полученный остаток кристаллизуют из этанола. Выход 2,1 г (84 %). ИК-спектр,  $\nu_{\max}$ , см<sup>-1</sup>: 1692 (C=O), 1590 (C=N), 3380 и 3190 (NH). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ ): 486 (71), 451 (25), 337 (67), 321 (100).

Аналогично получают соединения Ia – в (табл. 1).

**3-[(3-Оксикарбонилпропил)амино]-7-бром-5-(*o*-хлорфенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он (Ie).** К раствору 1 г (2,6 ммоль) 3-хлор-7-бром-5-(*o*-хлорфенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она (II, R<sup>1</sup> = Cl) в 50 мл сухого хлороформа прибавляют 0,8 г (5,2 ммоль) гидрохлорида метилового эфира  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, затем к полученной смеси медленно прибавляют раствор 0,5 г триэтиламина в 20 мл сухого хлороформа. Реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин, затем фильтруют. Фильтрат промывают водой до нейтральной реакции и упаривают в вакууме. Полученный эфир III растворяют в 50 мл спирта и при перемешивании прибавляют к нему 10 мл 1 М раствора NaOH. Раствор выдерживают в течение 20 мин, затем прибавляют 200 мл воды. Выпавший осадок промывают водой на фильтре до нейтральной реакции, сушат на воздухе и кристаллизуют из хлороформа. Выход 0,85 г (73 %). ИК-спектр,  $\nu_{\max}$ ,



**Рис. 1.** Влияние соединений Ia – е на спонтанную двигательную активность мышей в тесте “открытое поле” (суммарное количество двигательных актов, пересечений границ квадратов и вертикальных стоек; общая двигательная активность по сравнению с контролем). \* — достоверно при  $P \geq 0,05$ . Соединения Ia – е и феназепам вводились в дозе 0,5 мг/кг внутривнутрибрюшинно.

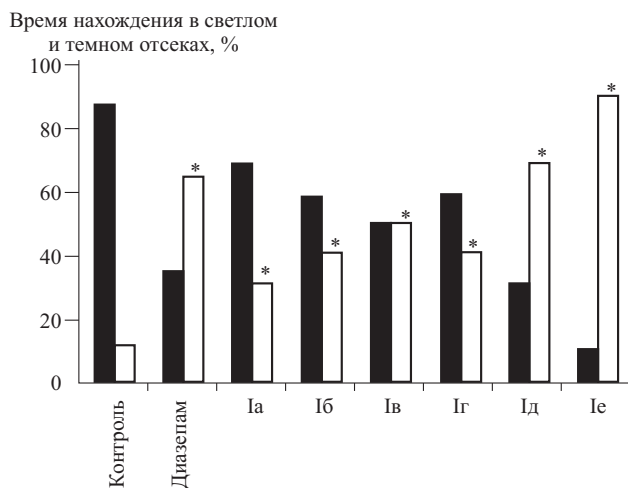
см<sup>-1</sup>: 1685 (C=O), 1590 (C=N), 3370 и 3185 (NH). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{отн}$ ): 431 (8), 396 (40), 348 (100). Аналогично получают соединение Id (табл. 1).

#### Экспериментальная биологическая часть

Фармакологическое изучение веществ проводилось на мышах и крысах массой 25 – 30 и 230 – 260 г соответственно.

Исследование анксиолитической активности проводили с помощью методики “темно-светлой камеры” [5]. Влияние соединений на спонтанную двигательную активность и исследовательское поведение осуществляли в “открытом поле”. Противосудорожную активность оценивали по тесту антагонизма с коразолом (125 мг/кг), нарушение координации движений — по тесту “вращающегося стержня” [6].

Влияние веществ на аппетит исследовали по методу “анорексии” на крысах [7], согласно которому у животных в течение 2-х недель вырабатывали навык взятия жидкой пищи. Затем в отобранной группе животным внутривнутрибрюшинно вводили физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl) за день до опыта. Через 30 мин после инъекции животных помещали в камеру с жидкой пищей и регистрировали каждые 30 мин в течение 3 ч количество потребляемой жидкой пищи (в мл). Контрольная группа животных потребляет в среднем за 30 мин 7 – 8 мл. На следующий день после 2 ч депривации контрольной и опытной группам животных вводили физиологический раствор и соединения в различных дозах (0,1 – 1 мг/кг) внутривнутрибрюшинно в суспензии с Twin-80. Через 30 мин после введения веществ крыс подпускали к жидкой пище и фиксировали количество потребленной пищи (в мл) за 3 ч каждые 30 мин. Затем все показатели по потреблению пищи каждой крысой суммировали и сравнивали с контрольными значениями. Активность соединений оценива-



**Рис. 2.** Анксиолитическая активность соединений Ia – е и диазепам на модели “темно-светлой камеры” (в % нахождения мышей в светлом отсеке камеры) по сравнению с контролем. \* — достоверно при  $P \geq 0,05$ . Соединения Ia – е и диазепам вводились в дозе 2,5 мг/кг внутривнутрибрюшинно.

ли по эффективной дозе, снижающей количество потребленной жидкой пищи на 50 % ( $ЭД_{50}$ ). Каждое соединение по каждому тесту изучали на 10 животных. Статистическую обработку полученных данных проводили по *t*-критерию достоверности Стьюдента.

#### Результаты и их обсуждение

Установлено, что соединения Iv – е в дозах 0,07 – 0,6 мг/кг, наряду с выраженной противосудорожной активностью, обладают также отчетливым анорексигенным эффектом (табл. 2). При этом отмечается симбатность анорексигенного и противосудорожного эффектов в соответствующих дозах. Так, наиболее активное соединение Ie с остатком ГАМК в качестве заместителя в положении 3 бенздиазепаинового ядра защищает подопытных животных от коразоловых судорог с  $ЭД_{50} = 0,08$  мг/кг и практически в этой же дозе ( $ЭД_{50} = 0,07$  мг/кг) снижает количество потребляемой пищи у крыс на 50 % по сравнению с контролем. Соединение Ig обладало также значительным анорекси-

Т а б л и ц а 1  
Производные 3-амино-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепаин-2-она Ia – е

Соединение	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Т. пл., °С	Выход, %	Брутто-формула
Ia	H	N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	190 – 192	88	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> BrN <sub>3</sub> O
Iб	Cl	–NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> NH <sub>2</sub>	214 – 216 (разл.)	45	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> BrClN <sub>4</sub> O
Iв	H	–HN–C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> –NO <sub>2</sub>	260 – 263 (разл.)	91	C <sub>21</sub> H <sub>15</sub> BrN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
Iг	Cl	–HN–C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> –NO <sub>2</sub>	266 – 269 (разл.)	84	C <sub>21</sub> H <sub>14</sub> BrClN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
Iд	H	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	220 – 222 (разл.)	75	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
Iе	Cl	NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	226 – 228 (разл.)	73	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> BrClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>

Таблица 2  
Анорексигенная и противосудорожная активность соединений Ia – e

Соединение	Анорексигенная активность у крыс, ЭД <sub>50</sub> (мг/кг)	Противосудорожная активность у мышей, ЭД <sub>50</sub> (мг/кг)
Ia	*	> 2
Iб	**	0,8
Iв	0,4	0,37
Iг	0,25	0,1
Id	0,4	0,6
Ie	0,07	0,08

\* Увеличивает потребление пищи по сравнению с контролем с ЭД<sub>50</sub> = 0,5 мг/кг.

\*\* Увеличивает потребление пищи по сравнению с контролем с ЭД<sub>50</sub> = 0,3 мг/кг.

генным эффектом с ЭД<sub>50</sub> = 0,25 мг/кг и противосудорожным с ЭД<sub>50</sub> = 0,10 мг/кг. Далее, в порядке убывания указанных активностей следовали соединения Iв, д. В отличие от соединений Iв – e, вещества Ia, б, наоборот, усиливают аппетит у крыс и увеличивают потребление пищи с ЭД<sub>50</sub> = 0,5 и 0,3 мг/кг соответственно.

В литературе имеются данные, указывающие на взаимодействие холецистокинергической системы с ГАМК<sub>A</sub>-рецептором [3, 8]. Известно, что все ССК-ергические нейроны в гиппокампе и коре больших полушарий являются также ГАМК-ергическими [8]. Было показано, что агонисты бенздиазепиновых рецепторов (хлордиазепоксид, диазепам и др.) устраняют центральные (тревогу, угнетение пищевого поведения) и периферические эффекты ССК-8 [9]. С другой стороны, установлено, что ССК-8 и его аналог церулеин оказывают в некоторых поведенческих тестах действие, подобное диазепаму и предотвращают судороги, вызванные пикротоксинином, изониазидом, гарманом и др., причем антагонист бенздиазепиновых рецепторов Ro 15 – 1788 устраняет только противосудорожное действие диазепамы, но не агонистов ССК-рецепторов [10]. Известно также, что производные 3-замещенных 1,4-бенздиазепинов, наряду с выраженной анксиолитической активностью, характеризуются почти полным отсутствием у них седативного и миорелаксантного эффектов [11].

Изученные нами соединения Ia – г не изменяют интенсивность общей двигательной активности крыс. Вещества Id, e в дозе 0,5 мг/кг подавляют спонтанную двигательную активность у мышей по тесту “открытое поле” (рис. 1). Следует отметить, что феназепам в

этой же дозе более существенно снижает общую двигательную активность. Соединения Ia – e в дозе 2,5 мг/кг не нарушают координацию движений у мышей по тесту “вращающийся стержень”, в отличие от феназепамы и диазепамы, которые вызывают миорелаксацию с ЭД<sub>50</sub> = 2,5 мг/кг.

Все изученные соединения (в дозе 2,5 мг/кг внутривенно) обладают анксиолитической активностью, увеличивая время нахождения мышей в светлом отсеке “темно-светлой камеры” (рис. 2). Наиболее активные соединения Id, e по силе действия превосходят диазепам.

Характерная для 1,4-бенздиазепиновых транквилизаторов корреляция их анксиолитических и противосудорожных свойств [6] в ряду веществ Ia – e отсутствует.

Особенностью соединений Iв – e является наличие у них, наряду с анксиолитическими, анорексигенных свойств, тогда как анксиолитики — агонисты бенздиазепиновых рецепторов — обладают гиперфагическими (усиливающими аппетит) свойствами [12].

Можно высказать предположение о том, что изученные соединения являются агонистами 1,4-бенздиазепиновых и антагонистами холецистокининовых рецепторов. При этом их связывание с 1,4-бенздиазепиновыми рецепторами обуславливает анксиолитические, а с холецистокининовыми рецепторами — анорексигенные свойства.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. Е. Evans, К. Е. Rittle, М. G. Bock, et al., *J. Med. Chem.*, **31**, 2235 – 2246 (1988).
2. М. G. Bock, R. M. DiPardo, В. Е. Evans, et al., *J. Med. Chem.*, **36**, 4276 – 4299 (1993).
3. Т. Б. Проскуракова, *Рос. психиатр. ж.*, **1**, 61 – 65 (2000).
4. S. Bell, R. Mc Cully, S. Childress, *J. Med. Chem.*, **11**, 172 – 174 (1968).
5. И. П. Лапин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **63**(3), 5862 (2000).
6. С. А. Андронати, Г. Я. Авруцкий, А. В. Богатский и др., *Феназепам*, Наукова думка, Киев (1982), сс. 145 – 151.
7. М. Dezube, Е. Е. Sugg, L. S. Birkemo, et al., *J. Med. Chem.*, **38**, 3384 – 3390 (1995).
8. Э. Э. Васар, Л. К. Ряго, А. Х. Соосаар и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **100**(12), 711 – 713 (1985).
9. Э. Э. Васар, Л. Х. Алликметс, И. В. Рыжов и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **105**, 168 – 170 (1988).
10. Э. Э. Васар, А. М. Нурк, М. О. Майметс и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **99**, 72 – 74 (1985).
11. J. K. Padio, M. Fiela, J. Hinton, et al., *J. Med. Chem.*, **41**, 1042 – 1049 (1998).
12. М. Filizola, D. H. Harris, and G. H. Loew, *J. Biomol. Struct. Dynam.*, **17**(5), 769 – 778 (2000).

Поступила 14.03.02