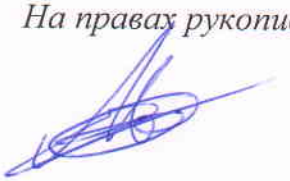
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОРИГИНАЛЬНЫХ И ПЕРСПЕКТИВНЫХ БИОМЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ»

На правах рукописи



МОКРОВ ГРИГОРИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

СОЗДАНИЕ ОРИГИНАЛЬНЫХ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ С ПСИХОТРОПНОЙ, ПРОТИВОСУДОРОЖНОЙ И КАРДИОТРОПНОЙ АКТИВНОСТЬЮ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

1.4.16. Медицинская химия

Диссертация на соискание ученой степени
доктора химических наук

Научный консультант:
доктор биологических наук,
профессор, член-корреспондент РАН
Гудашева Татьяна Александровна

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение 5
Глава 1. Обзор литературы 16
1.1. Современные подходы к конструированию новых лекарственных средств 16
1.2. Транслокаторный белок TSPO 18кДа и его лиганды 20
1.2.1. Структура TSPO 20
1.2.2. Локализация, функции и физиологическая роль TSPO 24
1.2.3. TSPO-опосредованный стероидогенез 24
1.2.4. Лиганды транслокаторного белка TSPO18 кДа 27
1.3. Противосудорожные средства и подходы к их конструированию 49
1.3.1. Эпилепсия и противосудорожные средства, применяемые в практике 49
1.3.2. Фармакофорный подход при конструировании соединений с противосудорожной активностью 52
1.4. Мультитаргетные кардиопротекторы 67
1.4.1. Биароматические блокаторы кальциевых каналов 68
1.4.2. Блокаторы HCN-каналов 73
1.4.3. Блокаторы натриевых каналов. 81
1.4.4. Блокаторы калиевых hERG-каналов 86
1.4.5. Бета-адреноблокаторы 92
1.4.6. БСЛ с другими механизмами действия 97
1.4.7. Выводы по БСЛ с кардиопротекторными свойствами 99
Глава 2. Обсуждение результатов 101
2.1. Направленный дизайн и синтез лигандов TSPO в ряду производных пирроло[1,2-а]пиразина, изучение их нейропсихотропной активности 101
2.1.1. Дизайн новых лигандов TSPO 101
2.1.2. Синтез новых лигандов TSPO ряда пирроло[1,2-*а*]пиразинов 114
2.1.3. Скрининг нейропсихотропной активности производных пирроло[1,2-*а*]пиразина 120
2.1.4. Изучение механизмов действия соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 136

2.1.5. Доклиническая разработка ГМЛ-1 в качестве быстродействующего анксиолитика.....141

2.1.6. Заключение по разработке лигандов TSPO в ряду производных пирроло[1,2-*a*]пиразинов в качестве потенциальных нейропсихотропных средств 146

2.2. Конструирование, синтез и изучение противосудорожной активности с сопутствующими биологическими эффектами в рядах различных гетероциклических систем 148

2.2.1. Производные оксима бензоилпиридинов и гексагидродибензофуранона.....149

2.2.2. Производные 4-фенилпирролидона.....173

2.2.3. Производные кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она 179

2.2.3. Докинговые исследования новых соединений с противосудорожной активностью 186

2.2.4. Анализ механизмов действия лидерного соединения ГИЖ-298 с противосудорожной активностью 196

2.2.5. Доклиническая разработка соединения ГИЖ-298 в качестве потенциального противосудорожного средства 200

2.2.6 Заключение по разработке новых потенциальных противосудорожных средств в рядах различных гетероциклических соединений 203

2.3. Дизайн и синтез новых соединений с кардиотропной активностью 205

2.3.1. Выдвижение рабочей гипотезы об универсальном биароматическом фармакофоре мультитаргетных кардиопротекторов 205

2.3.2. Дизайн новых соединений с БСЛ-структурой с потенциальными кардиопротекторными свойствами.....217

2.3.3. Синтез биароматических азаалканов.....232

2.3.4. Скрининг кардиопротекторных свойств биароматических соединений 2.3.1-2.3.4 веществ *in vivo* 240

2.3.5. Анализ механизма действия соединения АМЛ-802.....253

2.3.6. Доклиническая разработка АЛМ-802 в качестве средства, сочетающего антиаритмическое и антиишемическое действие.....255

2.3.7. Выводы по разработке потенциального кардиотропного средства на основе гипотезы биароматических мультитаргетных кардиопротекторов.....260

Глава 3. Экспериментальная часть 261
3.1. Синтетические методы, физико-химические свойства и спектральные характеристики соединений 261
3.1.1. Синтез лигандов TSPO 261
3.1.2. Синтез соединение с потенциальной противосудорожной активностью 282
3.1.3. Синтез биароматических соединений с потенциальными кардиотропными свойствами 312
1.1.3. Регистрация порошкограмм 330
1.1.4. Рентгеноструктурный эксперимент 334
3.2. Методы молекулярного моделирования 335
3.2.1. Молекулярный докинг 335
3.2.2. Фармакофорное моделирование 335
3.2.3. ADMET-анализ 336
3.3. Биологические эксперименты 336
3.3.1. *In vitro* радиолигандные исследования 336
3.3.2. Оценка экспрессии генов 340
3.3.3. Электрофизиологические исследования 340
3.3.4. Измерение концентрации ионов Ca^{2+} 340
3.3.5. Оценка нейропротекторной активности соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 341
3.3.6. *In vivo* исследования 341
Выводы 353
Практические рекомендации 355
Список сокращений 356
Список литературы 361

Введение

Актуальность исследования

Заболевания центральной нервной системы (ЦНС) и сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) – самые распространенные в мире, и являются главным бичом современного человечества.

По данным исследования, представленного журналом Lancet Neurology, в 2021 г заболеваниями ЦНС страдали более 3 миллиардов человек в мире [1]. При этом согласно анализу Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2019 год только психические заболевания были диагностированы примерно у миллиарда человек на планете [2]. Чаще всего у населения встречаются тревожные и депрессивные расстройства, экономический ущерб от которых превосходит ежегодно триллион долларов [3]. Особой тяжестью отличаются различные виды эпилептических расстройств, от которых по современным оценкам страдают до 70 миллионов человек на планете [4, 5].

ССЗ являются основной причиной смерти во всем мире. По данным ВОЗ в 2019 году от ССЗ умерло примерно 17,9 миллиона человек, что составляет 32% во всеобщей структуре летальности [6]. Из этих смертей 85% были вызваны инфарктами и инсультами. Из 17 миллионов преждевременных смертей (в возрасте до 70 лет) от неинфекционных заболеваний в 2019 году 38% были вызваны ССЗ.

Пандемия COVID-19 внесла существенный дополнительный вклад в распространенность и тяжесть течения как нервно-психических заболеваний, так и ССЗ. По предварительным оценкам только за один 2020 год на фоне пандемии COVID-19 распространенность тревожных и серьезных депрессивных расстройств увеличилась на 26%-28 [7]. А больные с сопутствующими ССЗ отличались особо тяжелым течением COVID-19 и высокой госпитальной летальностью [8].

Существующие на сегодняшний день препараты для лечения заболеваний ЦНС и ССЗ зачастую недостаточно эффективны, имеют нежелательные побочные эффекты, требуют длительной терапии, часто оказывают лишь симптоматический эффект. Таким образом, задача по созданию новых эффективных и безопасных средств терапии указанных заболеваний является одним из ключевых вызовов к современному научному сообществу. Возможными подходами к решению такой задачи является как поиск новых релевантных биомишеней, лигандное воздействие на которые активизирует физиологический терапевтический ответ на патологические процессы в тканях нервной и сердечно-сосудистой систем, так и разработка мультитаргетных лекарственных средств, обладающих повышенной эффективностью за счет синергизма действия по различным

механизмам, что особо актуально для таких мультифакторных заболеваний, как психические расстройства, эпилепсия и ССЗ.

Степень разработанности темы исследования

В современной медицинской химии подходы к конструированию новых лекарственных препаратов делятся на несколько типов в зависимости от наличия информации о целевых биомишенях и их структурах, а также о воздействующих на них лигандов. При наличии сведений о пространственной структуре белка, являющегося терапевтической мишенью в организме может быть использован мишень-ориентированный дизайн, включающий методы молекулярного докинга, а также *de novo* или фрагментного дизайна по конструированию новых молекул, обладающих высоким сродством к известному или гипотетическому активному сайту биомишени. Если для целевого белка известны структуры воздействующих на него экзогенных или эндогенных лигандов, то в дополнение к мишень-ориентированному может быть применен и лиганд-ориентированный дизайн. Этот комплексный подход позволяет с наиболее высокой долей эффективности конструировать новые молекулы с высокой аффинностью к целевой мишени. Тем не менее, далеко не всегда соединения, созданные при помощи такого метода, обладают целевыми биологическими эффектами *in vivo*. Во многих случаях единственно возможным подходом к конструированию потенциальных биологически активных соединений является непосредственно лиганд-ориентированный дизайн, основанный на фармакофорном моделировании с использованием библиотек активных структур. Этот метод применяется как в случае, когда целевая биомишень лиганда на сегодняшний день неизвестна, так и в случае, когда биомишень известна, но для нее отсутствуют структурные сведения, позволяющие предсказывать лиганд-белковые взаимодействия. Также лиганд-ориентированный подход эффективен и незаменим при дизайне потенциальных лекарственных средств для терапии многофакторных заболеваний с сложными мультимодальными механизмами, таких как, например, эпилепсия.

В настоящем исследовании с использованием наиболее прогностически-точных мишень- и лиганд-ориентированных подходов был осуществлен дизайн новых органических молекул с потенциальной психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью.

В качестве биомишени для создания новых безопасных психотропных средств был выбран 18 кДа транслокаторный белок (TSPO). С момента открытия TSPO в 1977 году и последующего установления его важнейшей функции в предотвращении психических расстройств за счет регуляции нейростероидогенеза было проведено достаточно большое

количество исследований по поиску лигандов этой биомишени. На сегодняшний день имеется несколько основных групп гетероциклических лигандов TSPO: производные бензодиазепинов (Ro 5-4864); имидазопиридинов (алпидем, YL-IPA08); бензоксазинов (этифоксин); пиридоиндолов (ONO-2952); индолов (FGIN-1-27); изохинолинов (PK-11195); пуринов (XBD-173, ZBD-2) [9]. Для многих соединений этих групп были показаны нейростероид-опосредованные анксиолитические и антидепрессивные свойства в моделях на грызунах. Несмотря на наличие ряда известных лигандов TSPO, в мире до сих пор отсутствуют лекарственные средства селективно с таким механизмом действия. На рынке имеется лишь анксиолитик этифоксин, который реализует свои эффекты как за счет связывания с $ГАМК_А$-рецептором, так и с белком TSPO. В 1990-ые годы компанией Synthélabo (Франция) в практику был внедрен препарат алпидем, сочетающий свойства TSPO-лиганда и агониста $ГАМК_А$-рецептора, в качестве средства для лечения генерализованного тревожного расстройства. Однако, этот препарат был изъят из клиники вследствие его гепатотоксических свойств. Клинические исследования проходили лиганды TSPO XBD173 и SSR180575 в качестве средств для лечения тревожных расстройств и нейропатий, однако дальнейшего развития они не получили. Отсутствие в клинической практике селективных TSPO-лигандов диктует необходимость поиска новых подходов к их конструированию и создания новых эффективных и безопасных соединений.

В мире на сегодня зарегистрировано и разрешено к применению примерно 30 противоэпилептических препаратов (ПЭП). К ним относятся производные бензодиазепинов (например, клобозам); дибензоазепины (карбамазепин); производные сульфамидов (топирамат, зонисамид); производные циклических амидов, диамидов и диимидов (фенобарбитал, фенитоин, этисуксимид); производные триазагетероцилов (ламотриджин); арил-содержащие нециклические амиды (лакосамид); производные ГАМК (габапентин); рацетамы (леветирацетам); вальпроевая кислота и некоторые другие. Около 20 молекул проходят сейчас клинические исследования в качестве средств лечения эпилепсии на различных фазах (2 – I фаза; 12 – II фаза; 6 – III и II/III фазы). При этом в России до сих пор отсутствуют собственные оригинальные ПЭП. Активный поиск новых ПЭП обусловлен тем, что существующие препараты имеют серьезные побочные эффекты, такие как протревожный потенциал, нарушение когнитивных функций, токсические и канцерогенные свойства. От 30 до 70% пациентов, страдающих эпилепсией, не отвечают на используемую терапию [5]. Важно отметить, что большинство существующих ПЭП были созданы либо в процессе слепого или случайного *in vivo* скрининга, либо в качестве "*next in class*" препаратов (*следующих в классе*). При этом для многих ПЭП чаще всего

отмечается их многокомпонентный механизм действия. В связи с этим фармакофорный дизайн рассматривается в мире как один из наиболее перспективных подходов для конструирования новых противосудорожных средств, так как он позволяет комбинировать ключевые для активности фармакофорные элементы соединений различных механизмов, обеспечивая мультитаргетный синергетический эффект [10].

Одна из современных концепций разработки эффективных и безопасных кардиопротекторных средств заключается в том, что такие препараты должны иметь мультитаргетный механизм действия [11]. Эта концепция находится в прямом соответствии с «мультитаргетным подходом к кардиопротекции», развиваемым в современном сообществе кардиологов [12]. У целого ряда известных клинически-эффективных и успешно применяемых в практике препаратов для лечения ССЗ имеется большое количество экспериментально подтвержденных биомишеней, для многих из которых доказана их вовлеченность в механизмы кардиопротекторного действия. Среди таких препаратов наиболее примечательны следующие молекулы биароматического ряда: верапамил, карведилол, ранолазин, небиволол и ивабрадин. В наборе биомишеней этих препаратов имеются следующие: Na^+-, K^+- и Ca^{2+}-каналы различных типов, α- и β-адренорецепторы, HCN-каналы, σ-рецепторы и ряд других [13]. Важно отметить, что на сегодняшний день в мире не проводилось систематических исследований по направленному поиску потенциальных лекарственных средств, нацеленных на несколько ключевых биомишеней кардиопротекторов. Имеются примеры работ по конструированию битаргетных соединений. Например, в Сегедском университете (Венгрия) осуществляется разработка соединения SZV-270 без проаритмического побочного действия, сочетающее свойства блокатора hERG- и Nav1.5-каналов. Клинические исследования в качестве средства лечения стенокардий проходит препарат IMB-1018972 (Imbria Pharmaceuticals), сочетающий свойства парциального ингибитора окисления свободных жирных кислот и активатора пируватдегидрогеназы.

Цель исследования

Цель настоящего диссертационного исследования состояла в создании новых химических соединений – потенциальных лекарственных средств с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью.

Задачи исследования

1. Конструирование новых гетероциклических лигандов 18 кДа транслокаторного белка TSPO в качестве соединений с потенциальной психотропной активностью.

2. Разработка методов синтеза сконструированных лигандов TSPO и получение библиотеки соединений новой группы.
3. Изучение связи «структура-анксиолитическая активность» синтезированных веществ. Выявление спектра психотропной активности на примере наиболее активных соединений, выбор лидерных структур. Доказательство вовлеченности TSPO в механизм действия соединений-лидеров.
4. Выявление новых фармакофорных моделей веществ с противосудорожной активностью. Дизайн на их основе оригинальных групп гетероциклических веществ, в том числе, сочетающих потенциальные противосудорожные, антиишемические или ноотропные свойства.
5. Разработка методов синтеза сконструированных соединений с потенциальной противосудорожной активностью и получение библиотек веществ новых групп.
6. Выявление противосудорожной, антиишемической и ноотропной активности в рядах синтезированных веществ. Анализ связей «структура-противосудорожная активность» и отбор наиболее перспективных соединений для дальнейшего развития. Компьютерный и экспериментальный анализ возможных механизмов действия активных молекул.
7. Формулировка и подтверждение новой гипотезы по конструированию потенциальных мультитаргетных кардиотропных средств. Дизайн на её основе новых веществ.
8. Разработка методов синтеза сконструированных потенциальных кардиопротекторов, получение их библиотек.
9. Выявление кардиотропной активности новых соединений с использованием набора моделей, позволяющих подтвердить их мультитаргетность. Изучение связей «структура-активность», отбор лидерной структуры для последующей разработки. Доказательство мультитаргетности механизма действия соединения-лидера.

Научная новизна

Впервые применен комплексный подход к конструированию новых лигандов TSPO, включающий 3D-фармакофорное моделирование, молекулярный докинг и ADMET-оптимизацию (оптимизацию по расчётным параметрам: всасывание, распределение, метаболизм, выведение, токсичность). Впервые получены фармакологически-пригодные селективные лиганды TSPO, обладающие спектром нейростероид-подобной активности, включая анксиолитическую, антидепрессивную, нейропротекторную и ноотропную. Впервые осуществлен синтез производных

1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразинов с использованием реакции [3+3]-циклоприсоединения пирролариlкетонов с производными 2-азидоакриловой кислоты.

Показана эффективность применения метода фармакофорного моделирования в конструировании соединений с противосудорожной активностью. На основе ряда соединений с антиэпилептическими свойствами и различными механизмами действия выявлено несколько новых моделей: (1) модель, сочетающая фармакофорные элементы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС), σ1-лигандов, мультитаргетных трициклических антидепрессантов, GAT1-ингибиторов и агонистов $ГАМК_A$-рецептора; (2) модель, сочетающая элементы AMPA-антагонистов и ряда веществ с антиэпилептической активностью в ряду карбонилоксимовых производных; (3) модель на основе структур рацетамов с противосудорожной активностью, включая лиганды SV2A-рецептора; (4) модель на основе производных ГАМК с различными механизмами действия. Впервые получены соединения с противосудорожной активностью в группах производных оксимов бензоилпиридинов, оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она, 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты, ГАМК-производных кумаринов, 1-тиокумаринов и хинолин-2-онов. Впервые получено производное 4-фенилпирролидона, сочетающее высокую противосудорожную и ноотропную активность в низких дозах (1.0-10 мг/кг). Найдены производные гексагидродибензофуранов, эффективно сочетающие противосудорожную и антиишемическую активность. Для оценки спектров возможных механизмов действия соединений с антиэпилептической активностью применен мультидокинговый анализ, результаты которого были частично подтверждены экспериментально.

Впервые использован метод 3D-фармакофорного моделирования для генерации соответствующих моделей биароматических лигандов ключевых биомишеней кардиопротекторов. Это позволило выявить сходные модели, содержащие по два ароматических фармакофора. С использованием этих данных была выдвинута гипотеза об универсальности биароматического фармакофора в кардиопротекции и мультитаргетности молекул, отвечающих такому строению. Предложенная теория была подтверждена созданием новых биароматических соединений с линейным азаалкановым линкером, в ряду которых была выявлена серия веществ с антиаритмической и антиишемической активностью. Подтвержден мультитаргетный механизм их действия. Впервые выявлены соединения, эффективные в широком наборе различных моделей аритмии и ишемии на грызунах.

Теоретическая и практическая значимость

В работе с использованием различных подходов молекулярного моделирования был получен набор новых структур с психотропной, противосудорожной и кардиотропной активностью. При этом осуществлено развитие теоретических представлений о трехмерном фармакофоре лигандов TSPO, состоящем из двух ароматических ядер, акцептора водородной связи и гидрофобной группы, с определенными расстояниями и углами между этими элементами. Выявлены новые фармакофорные модели веществ с противосудорожной активностью Выдвинута и подтверждена гипотеза универсального биароматического фармакофора для конструирования мультитаргетных кардиопротекторов. Отобран ряд новых молекул-кандидатов для расширенных доклинических исследований и дальнейшего развития в качестве лекарственных средств; имеющие хорошие перспективы по выходу на рынок лекарственных препаратов. Так, в ряду лигандов TSPO с пирроло[1,2-*a*]пиразиновым ядром был создан потенциальный быстрый и безопасный анксиолитик ГМЛ-1, свободный от побочных эффектов бензодиазепинов. В группе бензоилпиридинов было выявлено потенциальное противосудорожное средство ГИЖ-298, эффективное в широком наборе моделей эпилепсий различного типа. Среди производных 4-фенилпирролидона отобрано соединение ГИЖ-290, сочетающее антиэпилептическое и ноотропное действие, а в группе *O*-замещенных оксимов гексагидродибензофуранов выявлено соединение ГИЖ-272, сочетающее противосудорожную, антиишемическую и антигипоксическую активность. В ряду биароматических структур был найден мультитаргетный кардиопротектор АЛМ-802, сочетающий антиаритмическое и антиишемическое действие, эффективный в модели хронической сердечной недостаточности. Для большинства перечисленных потенциальных препаратов проводилась разработка лабораторных регламентов их получения.

По всем практически значимым результатам исследований получены патентные свидетельства (19 патентов, 3 заявки на патенты).

Соединение ГМЛ-1 прошло полный цикл доклинических исследований в рамках Государственного контракта № 14.N08.12.0087 (2016-2018 гг) «Доклинические исследования лекарственного средства – быстродействующего анксиолитика на основе производного пирроло[1,2-*a*]пиразина, лиганда 18 кДа транслокаторного белка (TSPO)» по Федеральной Целевой Программе «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

Методология и методы диссертационного исследования

Методология диссертационного исследования включала изучение и анализ ранее опубликованных материалов по мишень- и лиганд-ориентированным подходам к дизайну новых биологически активных соединений. Конструирование новых молекул осуществлялось с использованием теоретических методов молекулярного моделирования и молекулярной оптимизации, включая молекулярный докинг, фармакофорное моделирование и ADMET-оптимизацию. Для получения новых веществ использовались экспериментальные методы тонкого органического синтеза. Для установления структур органических соединений применялись стандартные физико-химические методы анализа, включая ЯМР- и ИК-спектроскопию, элементный анализ, рентгеноструктурный анализ. Данные биологических *in vitro* и *in vivo* исследований для анализа связей «структура-активность» были получены с использованием адекватных биохимических, клеточных и модельных животных экспериментов.

Положения, выносимые на защиту

- Созданы оригинальные лиганды TSPO на базе пирроло[1,2-*a*]пиразинового скэффолда, обладающие анксиолитической, антидепрессивной, нейропротекторной и ноотропной активностью. Разработаны синтетические методы получения 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамидов. Фармакологические эффекты новых TSPO-лигандов зависят от взаимодействия с сайтом связывания белка TSPO и от нейростероидогенеза. Отобрано соединение-лидер для последующей разработки в качестве перспективного быстрого безопасного анксиолитика без побочных эффектов; оптимизирован и масштабирован способ его синтеза.
- Получено нескольких групп гетероциклических соединений с противосудорожной активностью с использованием фармакофорного дизайна. Разработаны синтетические методы получения *O*-замещенных оксимов бензоилпиридинов; *O*-замещенных оксимов 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она; ариламидов (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты; 4-ГАМК-замещенных 3-нитрокумаринов, 1-тиокумаринов, хинолин-2-онов. Выявлены соединения с антиишемическими и ноотропными свойствами. *In silico* определены возможные биомишени новых соединений, обладающих противосудорожной активностью; некоторые из них подтверждены экспериментально. Отобраны соединения-лидеры в качестве потенциальных средств для лечения эпилепсии, в том числе, обладающие дополнительными ноотропными или антиишемическими эффектами. Оптимизирован и масштабирован способ синтеза соединения-лидера ГИЖ-298.

- Предложена и доказана гипотеза создания потенциальных мультитаргетных кардиотропных средств на основе универсального биароматического фармакофора. Получено нескольких групп биароматических производных ди- и триазаалканов с антиаритмической и антиишемической активностью. Отобрано соединение-лидер с широким спектром кардиопротекторного действия и мультитаргетным механизмом действия для последующей разработки; оптимизирован и масштабирован способ его получения.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность результатов синтетических исследований обеспечена применением адекватных методов физико-химического анализа структур полученных новых органических соединений. Достоверность результатов определения биологической активности синтезированных в диссертационной работе соединений обусловлена выбором релевантных *in vitro* тестов по определению целевых биомишеней и *in vivo* моделей изученных патологических состояний, проведением контрольных экспериментов без введения изучаемых агентов в тестовые системы, статистической обработкой полученных данных с использованием общепринятых критериев достоверности.

Основная часть представленных в работе результатов подвергалась рецензированию и проверке редакционными советами ведущих международных и отечественных журналов, в которых опубликованы материалы диссертационного исследования.

Личный вклад автора

Автором были проведены системный анализ литературных источников по материалам исследования и планирование работы; им осуществлялся мишень- и лиганд-ориентированный дизайн всех представленных в диссертационном исследовании групп соединений. Синтез сконструированных веществ был выполнен либо лично автором, либо под его руководством. Диссертантом обобщены результаты биологических экспериментов и проведен анализ «структура-активность» в исследованных группах соединений. Также автором были опубликованы материалы по теме диссертации.

Апробация работы

Результаты исследований были представлены и докладывались в 2013-2023 гг. в виде устных, приглашённых и стендовых докладов на следующих международных и российских конференциях, симпозиумах и съездах: Первая Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных

средств» (Москва, 2013), международная конференция «49th International Conference on Medicinal Chemistry RICT 2013» (Франция, Ницца, 2013), международный конгресс «17th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology» (ЮАР, Кейптаун, 2014), международная конференция «2nd Russian Conference on Medicinal Chemistry» (Новосибирск, 2015), международная конференция «XXIII National Meeting on Medicinal Chemistry» (Италия, Салерно, 2015), Всероссийская конференция молодых ученых с Международным участием, посвященная 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова (Рязань, 2015), 6-я Международная конференция «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Москва, 2015), международная конференция «XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry» (Великобритания, Манчестер, 2016), международная конференция «3rd Russian Conference on Medicinal Chemistry» (Казань, 2017), V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018), международный конгресс «18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology» (Япония, Киото, 2018), 4-й Российская конференция по медицинской химии «МедХим-Россия 2019» (MedChem-Russia, 2019, Екатеринбург), II научная конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии» (Москва, 2021), 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2022» (MedChem-Russia, 2022, Волгоград), VIII Междисциплинарная конференция «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (МОБИ-ХимФарма, 2023, Санкт-Петербург), международная конференция «XXIX Symposium on Bioinformatics and Computer-Aided Drug Discovery» (BCADD- XXIX, 2023, online), VI съезд фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства» (Московская область, 2023).

Публикации

Основные результаты диссертационного исследования изложены в 44 статьях в периодических научных изданиях из списка ВАК, из которых 40 статей в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus; 19 патентах РФ на изобретение и в 30 тезисах устных и стендовых докладов на конференциях, симпозиумах и съездах российского и международного уровней.

Источники финансирования

Выносимые на защиту результаты получены при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) по проектам №№ 18-015-00244-А, 17-04-00861-А; Министерства образования и науки России по государственному

контракту № 14.N08.12.0087 в рамках Федеральной Целевой Программе «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу»; Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий». В проекте РФФИ № 18-015-00244-А автор выполнял функции руководителя проекта, в остальных проектах – функции ответственного исполнителя.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 421 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка используемой литературы. Диссертация иллюстрирована 34 таблицами и 124 рисунками. Библиографический указатель содержит 611 источников, из которых 91 отечественных и 520 зарубежных.

Глава 1. Обзор литературы[1]

1.1. Современные подходы к конструированию новых лекарственных средств

С древнейших времен люди стремились найти средства для лечения заболеваний. И если в течение долгих времен в качестве ЛС применялись компоненты растительного, животного и минерального сырья, то после открытий XIX и первой половины XX веков, когда были установлены структуры многих активных соединений и была выработана концепция рецепторов и биомишеней, создание лекарств оформилось в отдельную мультипрофильную науку, которая с того момента продолжает бурно развиваться вместе с развитием технологического прогресса. Согласно библиографической базе данных Pubmed ежегодное количество публикаций по запросу словосочетания «drug design» растет на 1000 и более, начиная с конца 1980-ых годов, достигнув на сегодняшний день общего количества в почти 400 000 публикаций.

Базовыми принципами при поиске новых ЛС всегда оставались следующие: препарат должен быть эффективным, безопасным, не должен иметь побочных эффектов, вызывать зависимости и привыкания, особенно при длительном применении.

Современные методы драг-дизайна основываются на концепции «лекарство-биомишень» согласно которой для эффективной терапии какого-либо заболевания необходимо выявить определенный белок-биомишень в организме (рецептор, фермент, канал), для которого требуется создать лиганд (агонист, антагонист, модулятор и т.п.), селективно взаимодействующий с сайтом связывания этой биомишени [14]. Таким образом, в соответствии с этой концепцией принципы конструирования новых лекарственных молекул делятся на 4 типа в зависимости от имеющихся сведений о структуре биомишени и ее лигандов (таблица 1):

1. Рациональный дизайн ЛС в случае, когда известны структуры и биомишени, и его лигандов
2. *De novo* дизайн при известной биомишени и при отсутствии сведений о ее лигандах.
3. Непрямой/фармакофорный дизайн при наличии информации о строении лигандов, но при неизвестной биомишени

[1] Обзор литературы включает сбор сведений, необходимых для дизайна новых соединений

4. Высокопроизводительный скрининг (комбинаторная химия) в том случае, если для определенного целевого заболевания нет сведений ни о биомишени, ни об эффективных препаратах.

Таблица 1. Базовые подходы к конструированию новых потенциальных ЛС

Структура лиганда / **Структура биомишени**	**известна**	**неизвестна**
известна	**Рациональный дизайн** **Молекулярный докинг** **Мишень-ориентированный дизайн**	***de-novo* дизайн** **Поиск сайта связывания** **Дизайн на основе рецептора**
неизвестна	**QSAR(количественная оценка связи структура-активность)** **Непрямой дизайн** **Лиганд-ориентированный дизайн** **Фармакофорный дизайн**	**Комбинаторная химия** **Высокопроизводительный скрининг**

В дальнейшем кратко будут рассмотрены перечисленные подходы к драг-дизайну.

Рациональный драг-дизайн/Докинг

Быстрое развитие рационального подхода при конструировании новых лекарств в основном объясняется огромными достижениями в области информатики, статистики, молекулярной биологии, биофизики, биохимии, медицинской химии, фармакокинетики и фармакодинамики, произошедших за последние несколько десятилетий. Несомненно такой подход является одним из наиболее привлекательных, так как в руках исследователей имеется максимальное количество возможной информации для дизайна, что позволяет эффективно конструировать новые молекулы с высокой вероятностью обладающие целевыми свойствами [15]. Структуры биомишеней, как правило, определяются одним из следующих методов: рентгеноструктурным анализом, ЯМР-спектроскопией или электронной микроскопией. Кроме того, в настоящее время бурно развивается использование программы AlphaFold от Google DeepMind на базе искусственного интеллекта, которая с высокой точностью выполняет предсказания пространственной структуры белка [16]. Для дизайна новых веществ в этом случае чаще всего используются различные докинговые программы, предсказывающие эффективность взаимодействия «лиганд-биомишень» [17]. Однако, несомненное ограничение на такие расчеты накладывает необходимость учета конформаций целевого белка и лигандов, наличие растворителей, ионов и других молекул, сопряженных с биомишенью и ряд других факторов [18].

***De novo* дизайн**

Разработка лекарств *de novo* — это вычислительный подход, при помощи которого генерируются новые молекулы на базе отдельных небольших фрагментов без каких-либо априорных связей [19]. При этом целевые структуры должны обладать наибольшей энергией связывания с активным сайтом биомишени. В последнее время в дизайне *de novo* активно применяются методы машинного обучения, включая различные типы нейронных сетей, генеративно-состязательные сети и автокодировщики [20]. Тем не менее такой подход сохраняет такие недостатки, как генерация несинтезируемых молекул и ложно-активных веществ, ошибки в предсказании энергии связывания с мишенью.

Фармакофорное моделирование/QSAR

Фармакофорное моделирование представляет собой один из наиболее часто используемых инструментов драг-дизайна, позволяющих определить молекулярные функциональные особенности, необходимые для связывания молекулы с предполагаемой биомишенью, а затем проводить виртуальный и экспериментальный скрининг больших коллекций соединений для выбора оптимальных кандидатов. При таком подходе осуществляется выявление ключевых функциональных групп и фрагментов, вносящих основной вклад во взаимодействие лигандов с биомишенями, а также их взаимное расположение в пространстве. В настоящее время доступен широкий спектр программ для создания фармакофорных моделей и проведения виртуального скрининга [21]. Также широкое распространение получил метод QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship), основанный на построение расчетных зависимостей между структурой и активностью [22].

Высокопроизводительный скрининг

При полном отсутствии информации о биомишенях и активных структурах может применяться метод высокопроизводительного скрининга (ВПС) (High-Throughput Screening, HTS), который по сути заменяет поиск лекарственных средств методом «проб и ошибок» [23, 24]. Метод ВПС включает в себя скрининг большого количества разнообразных молекул по отношению к серии возможных биомишеней. Существенным недостатком этого подхода является его дороговизна, кроме того несомненное ограничение заключается в частой невоспроизводимости результатов, полученных *in vitro* при переходе *in vivo*.

Создание мультитаргетных препаратов

С начала 21 века началось бурное развитие «мультитаргетного» подхода к конструированию новых лекарственных средств, прежде всего, для лечения таких

многофакторных заболеваний, как сердечно-сосудистые заболевания, рак и нейродегенеративные заболевания, в патогенез которых вовлечено множество сигнальных путей и рецепторных систем [25–28]. Наглядно динамику развития «мультитаргетинга» в драг дизайне иллюстрирует диаграмма результатов поиска в pubmed.org. По запросу “multitarget” этот поисковик выдает 10459 результатов, причем почти половина из них (4302 результатов) представлена за 2020-2022 годы. Сходная динамика наблюдается при поиске по близкому запросу “network pharmacology” («сетевая фармакология) – дисциплине, направленной на максимально широкое изучение влияния ЛС на организм. Из 47 647 общего количества результатов поиска по запросу “network pharmacology” на 2020-2022 годы приходится более 30% (14 875) результатов.

Согласно новой парадигме «сетевой фармакологии», селективные соединения по сравнению с мультитаргетными препаратами проявляют меньшую клиническую эффективность [29]. Более того, в современных работах часто можно встретить фразу о том, что «селективных препаратов не существует» [30]. Таким образом, «селективные» препараты могут на практике являться лишь «недоизученными». Между тем, максимально полная информация о спектре биологических мишеней лекарственных средств, представляется чрезвычайно важной, так как интегральный эффект молекулы на несколько мишеней может радикально отличаться от такового при воздействии лишь на одну из них.

Для конструирования соединений с мультитаргетным механизмом действия используются все вышеупомянутые подходы драг-дизайна, прежде всего такие, как метод молекулярного докинга и фармакофорного моделирования, а также комбинации различных методов.

Далее в настоящем разделе приводятся обзоры литературы по трем тематикам, отражающим три подхода к конструированию лекарственных средств:

1. Подход рационального драг-дизайна на примере создания лигандов транслокаторного белка TSPO 18 кДа
2. Подход непрямого фармакофорного дизайна на примере выявления фармакофорных моделей веществ с противосудорожной активностью
3. Комплексный подход по конструированию мультитаргетных соединений на примере выявления базового фармакофора мультитаргетных кардиопротекторов.

1.2. Транслокаторный белок TSPO 18кДа и его лиганды[1]

Транслокаторный белок с массой18 кДа (TSPO) является одной из многообещающих биологических мишеней для создания новых нейропсихотропных средств вследствие его ключевой роли в нейростероидогенезе. В настоящем разделе отражены современные представления о структуре TSPO, механизме его участия в нейростероидогенезе и приведены данные о существующих эндогенных и синтетических лигандах TSPO и о подходах к их созданию. Более подробно данная тема отражена в обзоре автора [9].

1.2.1. Структура TSPO

TSPO – это трансмембранный полипептид, состоящий в зависимости от вида из 153-169 аминокислот, образующих пять спиральных субъединиц (TM-1 – TM-5). TSPO локализуется преимущественно на наружной мембране митохондрий стероидпродуцирующих тканей центральной и периферической нервной системы (рис. 1) [31, 32].

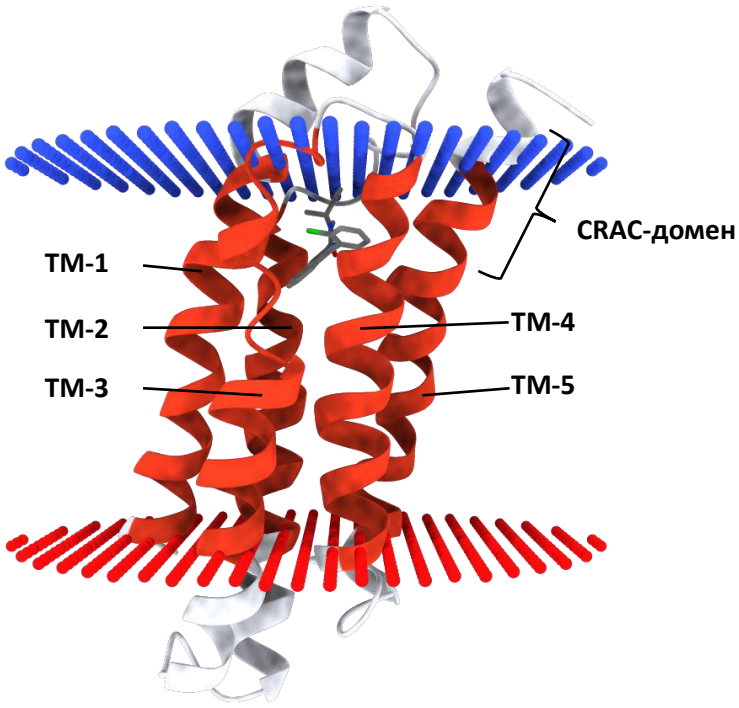


Рисунок 1. 3D-структура TSPO мыши в высоком разрешении в комплексе с лигандом PK11195 (идентификатор в PDB: 2MGY). PK11195 связывается с центральным гидрофобным сайтом, а холестерин взаимодействует с CRAC-доменом на спирали TM-V. Красным цветом отмечены трансмембранные участки пептидных спиралей TSPO.

В течение почти трех десятилетий после открытия TSPO был известен как периферический бензодиазепиновый рецептор (peripheral benzodiazepine receptor, PBR), но в 2006 году в свете понимания его функций, а также изучения его строения был назван

[1] Обзор литературы и сбор базы данных для дизайна новых TSPO-лигандов

транслокаторным белком TSPO [31]. Белок TSPO был выделен как у эукариотов, так и у прокариотов. При этом аминокислотные последовательности TSPO различных видов имеют различия разной выраженности. На рис. 2 представлены аминокислотные последовательности TSPO человека, мыши, крысы и бактерий *Rhodobacter sphaeroides* и *Bacillus cereus*, где цветом отмечены различия относительно последовательности у человека [33].

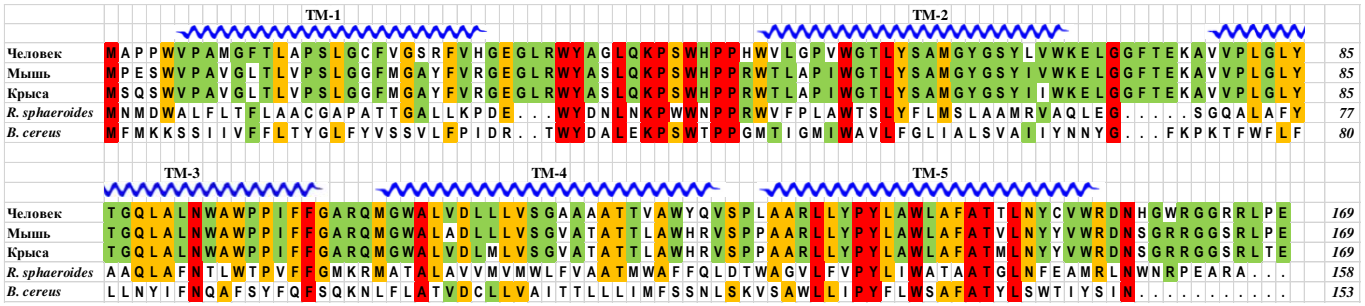


Рисунок 2. Аминокислотные последовательности TSPO человека, мыши, крысы и бактерий *Rhodobacter sphaeroides* и *Bacillus cereus*. Цифры в конце строк указывают количество аминокислот в последовательностях. Цветом выделены совпадения в последовательностях аминокислот. Синие зигзаги соответствуют пяти белковым спиралям рецептора TM1-TM5. Взято из [33].

В 2014 году впервые была определена 3D-структура TSPO мыши (mTSPO) в высоком разрешении в комплексе с классическим лигандом PK11195 методом ЯМР-спектроскопии (идентификатор в Protein Data Bank (PDB): 2MGY) (рис. 1) [32]. Структура mTSPO была также опубликована в отсутствии PK11195, при этом было продемонстрировано, что без лиганда белок обладает существенной конформационной гибкостью, в то время как при наличии PK11195 mTSPO принимает одну устойчивую конформацию [32, 34]. В 2015 году была опубликована кристаллическая структура высокого разрешения TSPO *Bacillus cereus* (BcTSPO) в комплексе с PK11195 (идентификатор в PDB: 4RYI и 5DUO) (рис. 3А) [35], а также кристаллическая структура TSPO *Rhodobacter sphaeroides* (RsTSPO) (идентификатор в PDB: 4UC1, 4UC2, и 4UC3) (рис. 3Б) [36, 37].

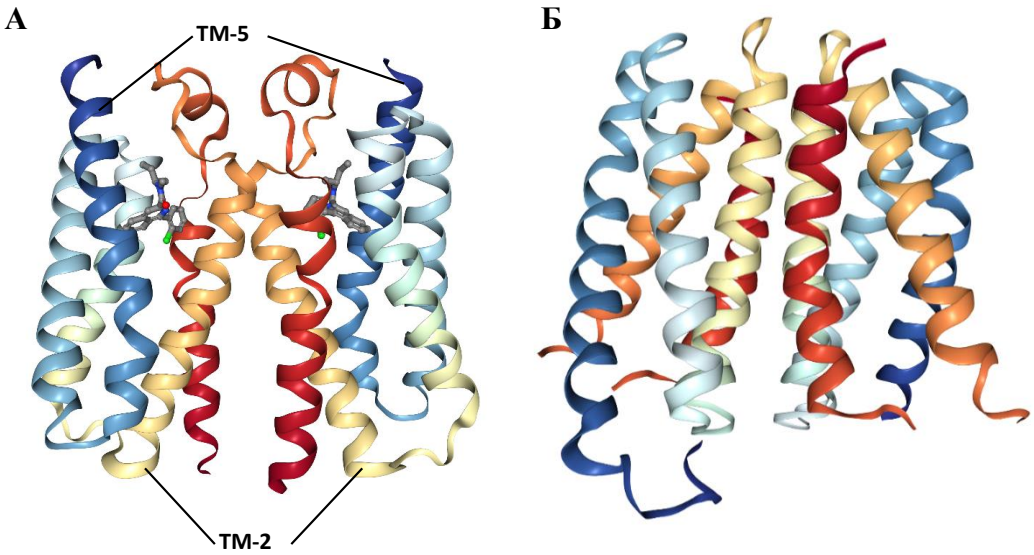


Рисунок 3. (А) 3D-структура BcTSPO в комплексе с PK11195 в димерной форме (идентификатор в PDB: 4RYI). (Б) 3D-структура RsTSPO в димерной форме (идентификатор в PDB: 4UC3).

Установлено, что в структурах mTSPO, и BcTSPO имеется центральная гидрофобная полость, которая является сайтом связывания лиганда PK11195. При этом в комплексе mTSPO-PK11195 сайт связывания PK11195 располагается между спиралями TM-I и TM-II, и включает следующие аминокислотные остатки белка: Ala23, Val26, Leu49, Ala50, Ile52, Trp107, Ala110, Leu114, Ala147 и Leu150 (рис. 4А) [32]. В структуре комплекса BcTSPO-PK11195 выявлено подобное расположение сайта связывания PK11195 между пептидными спиралями TM-I и TM-II, включающее аминокислотные остатки Ser22, Tyr32, Pro42, Ile47, Phe55, Phe90, Ser91, Gln94, Cys107, Ala142 и Leu145. При этом отмечена возможная роль индольных NH-групп триптофановых остатков Trp51 и Trp138 в образовании водородной связи с карбонильной группой PK11195 [35] (рис. 4Б).

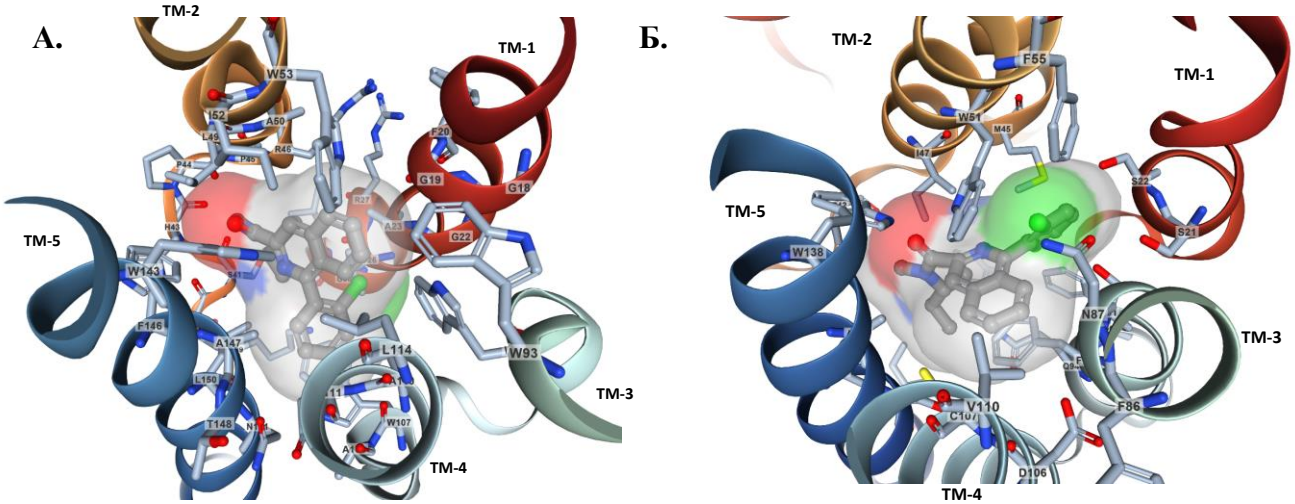


Рисунок 4. (А) Положение PK11195 в центральном сайте связывания комплекса mTSPO-PK11195. (Б) Положение PK11195 в центральном сайте связывания комплекса BcTSPO-PK11195. Водородные связи показаны черным пунктиром, гидрофобные взаимодействия не отмечены.

Еще один сайт связывания находится на CRAC-домене (cholesterol recognition amino acid consensus, аминокислотный участок, распознающий холестерин) спирали TM-V (рис. 1). Этот сайт ответственен за связывание холестерина и холестерин-подобных лигандов [38]. Предположительно за связывание с холестерином в CRAC-домене ответственны аминокислотные остатки Tyr152 и Arg156.

Полиморфизм TSPO

В начале 2010-ых годов в процессе изучения на людях меченного лиганда TSPO – соединения ^{11}C-PBR28, использовавшегося для проведения позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ), было установлено, что связывание этого лиганда у разных людей происходит с различной эффективностью [39]. Исследования позволили разделить популяцию людей на три типа: HABs (high-affinity binders, с высоким сродством к TSPO), low-affinity binders (LABs, с низким сродством к TSPO) и mixed-affinity binders (MABs, со смешанным сродством к TSPO). Различия в аффинности лиганда PBR28 по отношению к TSPO для HABs и LABs оказалось весьма существенным, константы ингибирования по отношению к ним составили ~4 нМ и ~200 нМ, соответственно. В то же время для MABs были определены две константы ингибирования, составляющие ~4 и ~300 нМ. Другие лиганды TSPO, такие как DAA1106, DPA713, PBR06, PBR111, XBD173 также демонстрировали существенное различие в связывании с сайтами связывания TSPO у HABs и LABs [39, 40]. Однако, было обнаружено, что лиганд PK11195 не имеет различий в аффинности по отношению к TSPO у HABs и LABs [40]. Было установлено, что различия в аффинитете к TSPO в популяции человека обусловлены полиморфизмом TSPO, а именно, различием аминокислоты в 147 положении полипептидной цепи этого рецептора [41]. При этом у «основного TSPO» (TSPO wild type, TSPO WT) в этом положении находится аланин, а у «второго типа TSPO» - треонин (TSPO A147T). С целью исследований влияния данного полиморфизма на функции TSPO были получены кристаллические формы TSPO из бактерий *Rhodobacter sphaeroides* и созданного на его основе мутантного TSPO, имитирующего замену Ala(147) на Thr(147) у TSPO человека [36]. Было установлено, что данная мутация приводит к конформационным изменениям в области спиралей TM-II и TM-V, за счет чего и возможно изменение конфигураций сайтов связывания на TSPO. Однако, следует учитывать тот факт, что TSPO *Rhodobacter sphaeroides* имеет лишь 34% идентичности с TSPO человека, поэтому различия в двух типах TSPO этой бактерии не может полностью объяснить различия в аффинности лигандов TSPO у человека.

1.2.2. Локализация, функции и физиологическая роль TSPO

TSPO представлен во многих органах, однако в наибольшей степени он обнаруживается в тканях, продуцирующих стероиды, таких как ткани надпочечников, гонад и мозга [31, 42]. В ЦНС TSPO обычно представлен в клетках микроглии и реактивных астроцитах [43, 44]. Также, высокое содержание TSPO было обнаружено в некоторых типах нейрональных клеток, таких как нейроны обонятельной луковицы млекопитающих [45, 46], в первичной клеточной культуре корковых астроцитов и нейронов млекопитающих, в гранулярных клетках мозжечка, в глиальных клетках линии BV-2 [47], и в сенсорных нейронах спинального ганглия крыс [48]. О важнейшей роли TSPO свидетельствует тот факт, что функциональная инактивация TSPO индуцирует образование у мышей фенотипа, погибающего на эмбриональной стадии [49].

Как основной компонент наружной мембраны митохондрий, TSPO опосредует различные функций митохондрий, в том числе транспорт холестерина и синтез стероидных гормонов, транспорт порфиринов, митохондриальное дыхание, открытие митохондриальных пор, апоптоз и пролиферацию клеток [42–44, 50–52].

1.2.3. TSPO-опосредованный стероидогенез

В клетках, продуцирующих стероиды, TSPO опосредует перенос холестерина от внешней к внутренней мембране митохондрий, что является лимитирующей стадией в синтезе нейростероидов [31, 42, 53]. *In vitro* эксперименты, подтвержденные методом ядерного магнитного резонанса, показали, что TSPO связывает холестерин в области карбоксильного конца цитозольного белка (CRAC), входящего в состав аминокислотного домена TSPO, в наномолярных концентрациях [54, 55].

Механизм переноса холестерина внутрь митохондрии до сих пор окончательно не ясен, однако продолжительные исследования показали, что в этот процесс вовлечены помимо TSPO множество других белковых структур. На сегодняшний день транспорт холестерина в митохондрию представляется следующим образом (рис. 5) [56, 57]. На поверхности митохондрии TSPO образует белковый комплекс, получивший название «трансдуктосома», который отвечает за перенос холестерина из цитозоля на CRAC-домен TSPO. Помимо самого TSPO в этот комплекс входят следующие компоненты: VDAC (Voltage-Dependent Anion Channel, Вольт-зависимый анионный канал), StAR (Steroidogenic acute regulatory protein, Стероидогенный острый регуляторный белок), ACBD1 (acyl-CoA binding domain 1, другое название – DBI, ингибитор связывания диазепама), ACBD3 (acyl-CoA binding domain 3, другое название – PAP7, PBR-associated protein) и регуляторная субъединица Iα cAMP-зависимой протеинкиназы A (PKA-RIα). «Трансдуктосома»

непосредственно связана с другой структурой, получившей название «метаболон» [57]. Термин «метаболон» описывает мультибелковый комплекс, который является промежуточным звеном между «трансдуктосомой» и цитохромом CYP11A1 (P450scc), обеспечивая второй этап переноса холестерина внутрь митохондрии к месту его превращения в прегненолон. «Метаболон» представляет собой 800 кДа комплекс, содержащий несколько белков TSPO, VDAC, AAA+ АТФаза (ATAD3A, белок, формирующий контакт внешней и внутренней митохондриальной мембран) и сам цитохром CYP11A1 [57]. Таким образом, TSPO и VDAC являются компонентами как «трансдуктосомы», так и «метаболона», что подчеркивает их ключевую роль в транспорте холестерина внутрь митохондрии.

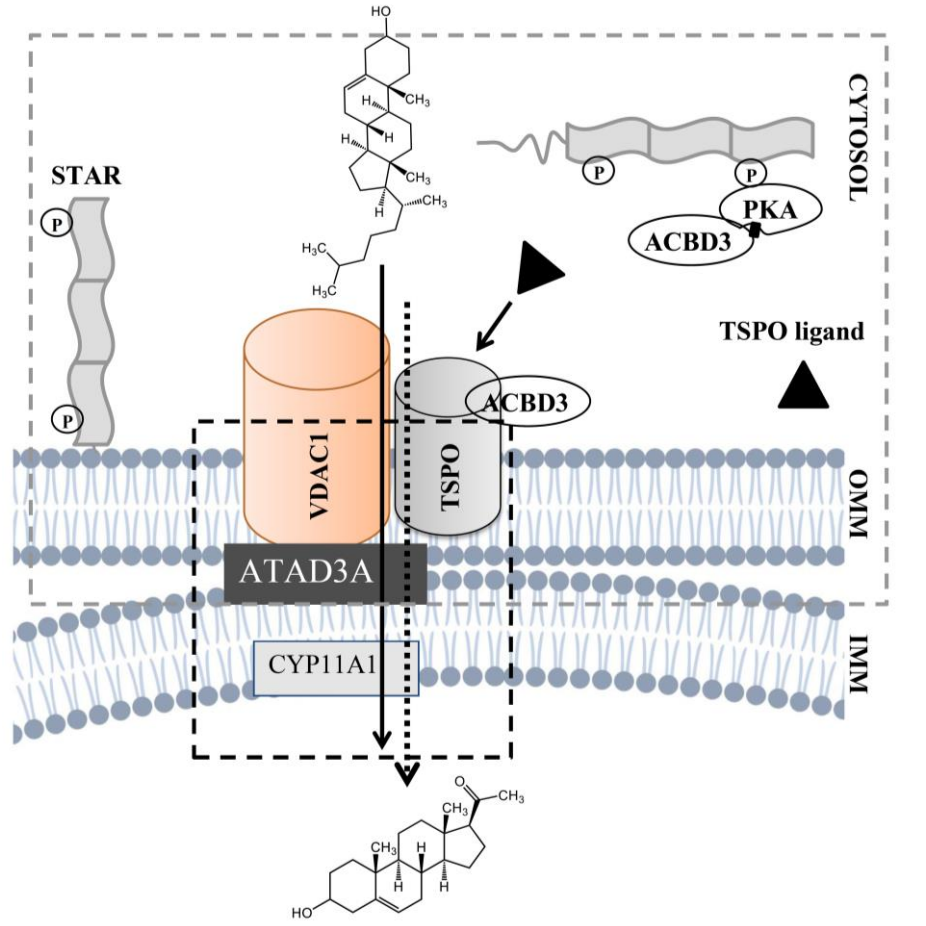


Рисунок 5. Современные представления о механизме переноса холестерина внутрь митохондрии с участием рецептора TSPO. Обозначения: VDAC1 (Voltage-Dependent Anion Channel, Вольт-зависимый анионный канал), StAR (Steroidogenic acute regulatory protein, Стероидогенный острый регуляторный белок), ACBD1 (acyl-CoA binding domain 1), ACBD3 (acyl-CoA binding domain 3), PKA – цАМФ-зависимая протеинкиназа А, ATAD3A - AAA+ АТФаза, белок, формирующий контакт внешней и внутренней митохондриальной мембран, CYP11A1 – цитохром P450scc, OMM - outer mitochondrial membrane, внешняя мембрана митохондрии, IMM – inner mitochondrial membrane, внутренняя мембрана митохондрии. Серым пунктиром ограничена «трансдуктосома», а черным - «метаболон». Взято из [56]

На внутренней мембране митохондрии холестерин под действием фермента P450scc, расщепляющего боковую цепь холестерина и относящегося к семейству цитохромов P450, превращается в прегненолон, который затем диффундирует в цитоплазму (рис. 6) [58]. Ферменты 3β-HSD (3β-гидроксистероиддегидрогеназа) и Δ^4-Δ^5-изомераза формируют прегненолон в прогестерон, который под действием 21-гидроксилазы превращается в деоксикортикостерон. 5α-редуктаза восстанавливает прогестерон и деоксикортикостерон в 5α-дигидропрогестерон и 5α-дигидродеоксикортикостерон, соответственно. Последние трансформируются в аллопрегнанолон и 3α,5α-тетрагидродеоксикортикостерон, соответственно, под действием 3α-HSD (3α-гидроксистероиддегидрогеназы). Нейростероиды имеют собственный, отличный от бензодиазепинового, сайт связывания на $ГАМК_A$-рецепторе, и они модулируют нейромедиаторное действие ГАМК (γ-аминомасляной кислоты), что приводит к усилению тока анионов хлора внутрь клетки нейрона, что приводит к тормозному постсинаптическому эффекту. Лиганды TSPO (эндогенные или синтетические) модулируют действие этого рецептора, активируя транспорт холестерина с внешней на внутреннюю мембрану митохондрии.

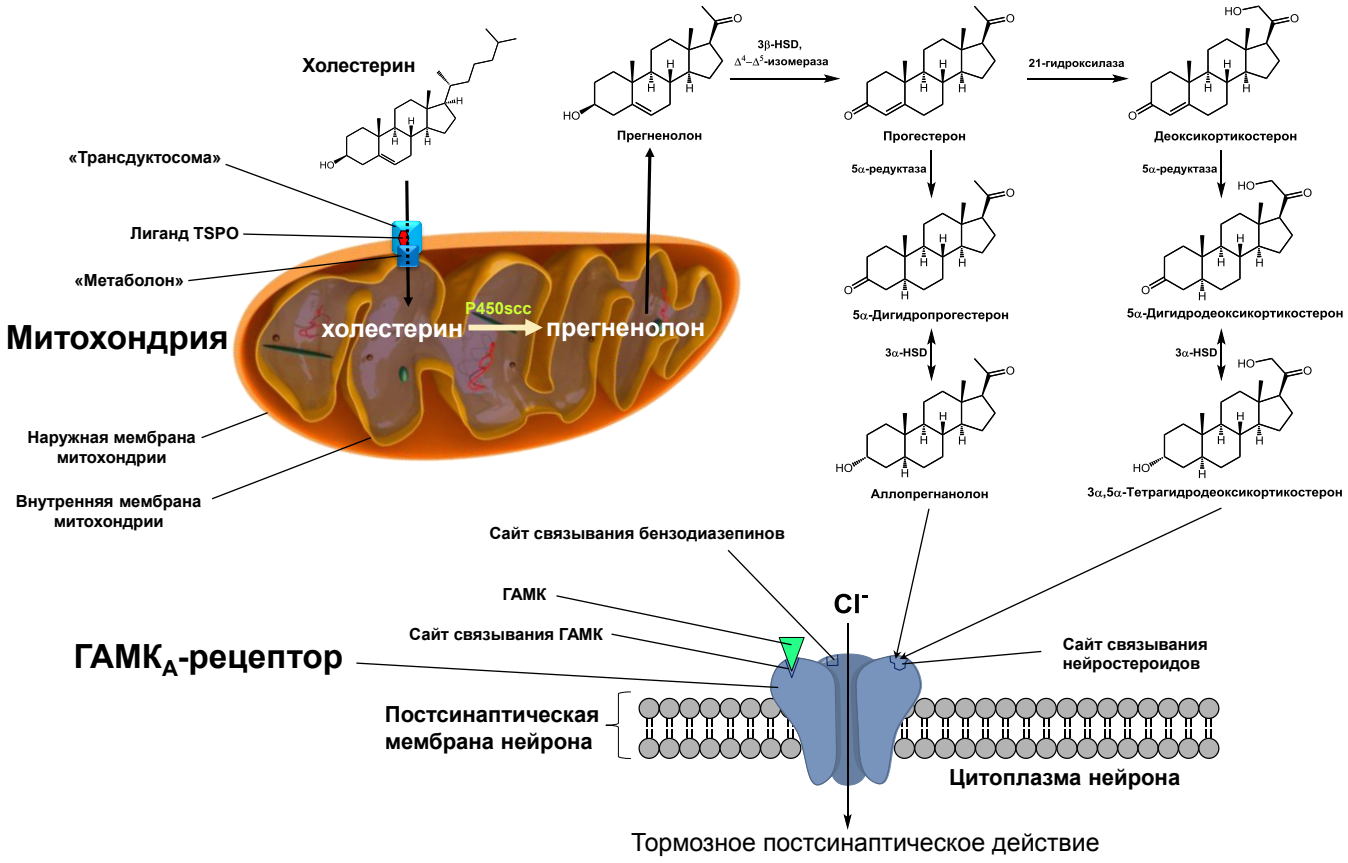


Рисунок 6. Механизм нейростероидогенеза и тормозного действия нейростероидов, опосредованных модуляцией TSPO его лигандами.

1.2.4. Лиганды транслокаторного белка TSPO18 кДа

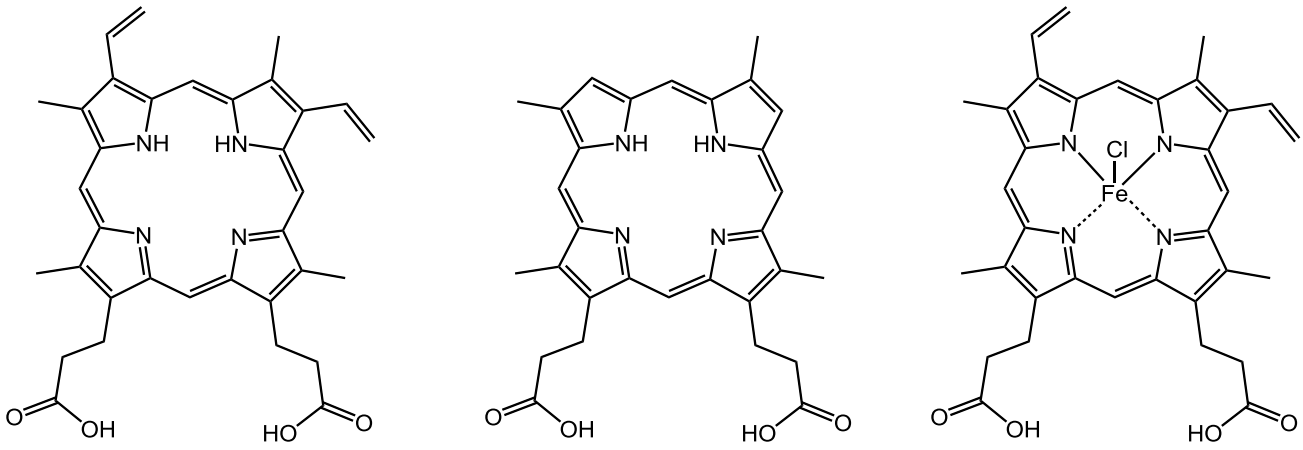
1.2.4.1. Эндогенные лиганды.

Холестерин

Холестерин является ключевым лигандом TSPO, так как именно он является исходным веществом для дальнейшего биосинтеза нейростероидов после проникновения через мембрану митохондрии. Холестерин обладает наномолярным сродством к TSPO (Kd < 10 нМ) [59]. Как было показано выше, местом связывания холестерина на TSPO является CRAC-домен.

Порфирины

Ряд порфиринов являются эндогенными лигандами TSPO [60, 61], их сайт связывания имеет общую область с сайтом связывания PK11195 [35]. Наибольшим аффинитетом обладают следующие производные порфиринов: протопорфирин IX (Ki 14.5 ± 10.7 нМ [61]), дейтеропорфирин IX (Ki = 31.3 ± 2 нМ) и гемин (Ki = 40.6 ± 13.7 нМ) (рис. 7) [61]. Несмотря на то, что многие порфирины обладают высокой аффинностью по отношению к TSPO, эти соединения практически не изучались на наличие биологических эффектов. Вероятно, сродство порфиринов к TSPO, обусловлено полифункциональностью этого рецептора, задействованного не только в транспорте холестерина, но и в транспорте порфиринов внутрь митохондрии, где они принимают участие в биосинтезе митохондриальных цитохромов и других порфирин-содержащих молекул [62]. В 2023 году были получены кристаллические структуры комплексов *Rhodobacter sphaeroides* TSPO (с мутациями A138F и A139T) с протопорфирином IX и гемом [63].



Протопорфирин IX Дейтеропорфирин IX Гемин

Рисунок 7. Представители порфиринов, обладающих высоким сродством к TSPO.

DBI и его производные

В процессе поиска эндогенных лигандов TSPO было установлено, что одним из таковых является ингибитор связывания диазепама (DBI). DBI представляет собой полипептид массой 9 кДа, который был открыт в 1983 году в мозге крысы при изучении белков, ингибирующих бензодиазепиновое связывание с $ГАМК_A$-рецептором [64]. Было установлено, что DBI способен вытеснять бензодиазепиновые лиганды из TSPO, выделенных из коры надпочечников крыс, а также, что DBI содержится в высоких концентрациях клетках коры надпочечников и клетках Лейдига текстикул, которые обогащены рецепторами TSPO [65]. Также было показано, что основные посттрансляционные продукты DBI - октадеканейропептид DBI_{33-50} (octadecaneuropeptide, ODN) и триаконтатетронейропептид DBI_{17-50} (triakontatetraneuropeptide, TTN), также обладают сродством к TSPO [66, 67].

В работе Papadovulos с соавторами [68] было установлено, что как сам DBI, так и его производные TTN и ODN, стимулируют митохондриальный биосинтез стероидов. При этом авторы показали, что максимальная стимуляция образования прегненолона под действием DBI (в три раза) достигается при концентрации белка 0.33 мкмоль. Эффективность стимуляции стероидогенеза DBI превышает этот показатель, полученный под действием производных бензодиазепинов. Анализ литературы позволяет сделать предположение, что DBI и его производные взаимодействуют с тем же сайтом связывания на TSPO, что и синтетические лиганды. Таким образом, вероятно, синтетические лиганды TSPO полностью или частично выполняют роль DBI при взаимодействии с этим рецептором.

PAP7

В 2001 году был выявлен еще один эндогенный белковый лиганд TSPO, получивший название «ассоциированный с ПБР протеин» (PBR-associated protein, PAP7) [69]. Этот белок массой 52 кДа был выявлен в тканях грызунов и человека, содержащих сам TSPO. Позже было установлено, что PAP7 является важной составляющей при формировании белкового комплекса, включающего TSPO, для транспорта холестерина на внутреннюю мембрану митохондрии [70, 71].

В процессе выявления новых функций эндогенных пептидов как DBI, так и PAP7 были отнесены к общему классу белков, содержащих домен связывания ацил-кофермента А (acyl-coenzyme A binding domain containing protein, ACBD), в связи с чем были переименованы в ACBD1 и ACBD3, соответственно [70]. Эти данные позволили предположить, что ацил-КоА-связывающие белки или сам ацил-КоА регулируют митохондриальную функцию TSPO.

1.2.4.2. Синтетические лиганды TSPO.

Ro 5-4864

История создания и исследования синтетических лигандов TSPO начинается в 1977 году вместе с открытием самого рецептора, когда Braestrup и Squires при проведении экспериментов по связыванию меченного тритием диазепама в различных тканях крыс обнаружили, что он связывается не только со своим специфическим сайтом связывания на мембранах мозга (центральный бензодиазепиновый рецептор, ЦБР (CBR)), но и с сайтом связывания, расположенным в митохондриальной фракции почек, печени и легких крыс [72] (рис. 8). В этом же исследовании авторы изучили способность различных представителей ряда бензодиазепинов вытеснять [^{3}H]диазепам из выявленных сайтов связывания. Было обнаружено, что соединение Ro 5-4864, которое практически не вытесняет [^{3}H]диазепам из мембран мозга, очень активно замещает эту радиометку из митохондриальной фракции почек. Напротив, клоназепам, показавший наибольшую степень ингибирования связывания меченного диазепама с мембранами мозга, практически не ингибировал почечное связывание. Полученные данные, а также последующие исследования позволили сделать вывод, что новый сайт связывания бензодиазепинов отличается от ЦБР и имеет собственные функции. На основании первичных данных по локализации нового бензодиазепинового сайта связывания, ему было присвоено название периферический бензодиазепиновый рецептор (ПБР, Peripheral Benzodiazepine Receptor (PBR)). В 2006 году в свете детализации молекулярных функций и структуры этого рецептора, он был переименован в транслокаторный белок (TSPO) [31].

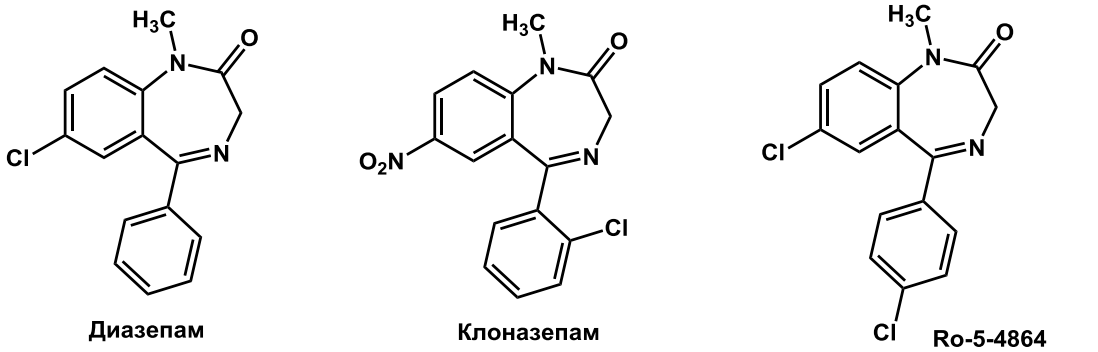


Рисунок 8. Лиганды TSPO и ГАМК$_A$ бензодиазепинового ряда

Благодаря своей высокой аффинности и селективности соединение Ro 5-4864 в дальнейшем использовалось для исследования характеристик TSPO, на основании которых был сделан вывод, что этот рецептор принципиально отличается от ЦБР, имеет собственную структуру с внутриклеточной локализацией и собственные функции [73].

Производные бензодиазепинов явились первыми синтетическими лигандами TSPO, а соединение Ro 5-4864 стало классическим представителем этой группы, которое активно использовалось далее для выявления функционала TSPO и в качестве эталонного вещества при поиске новых лигандов TSPO.

Ro 5-4864 проявляет антидепрессивное действие в тесте вынужденного плавания в дозах 1.0 и 3.0 мг/кг (внутрибрюшинно, в/б), причем этот эффект блокируется при предварительном введении антагониста TSPO – соединения PK11195 [73]. Также Ro 5-4864 продемонстрировал высокий потенциал в качестве средства для лечения болезни Альцгеймера в модели на мышах в дозе 3 мг/кг (в/б) [74]. В экспериментах на крысах показана нейропротективная активность Ro 5-4864 в моделях повреждения периферической и центральной нервной системы в дозе 10 мг/кг (в/б). Это соединение способствовало регенерации двигательных нейронов и восстанавливало функцию лицевого нерва после аксотомии [75], а также препятствовало нейродегенерации седалищного нерва у стареющих крыс в дозе 3 мг/кг (8 подкожных инъекций) [76]. В модели повреждения кортекса крыс Ro 5-4864 в концентрации 100 и 150 мкмоль/л существенно увеличивал выживаемость нейронов [77], а в модели эксайтотоксичности, вызванной каиновой кислотой, это соединение защищало нейроны гиппокампа крыс от повреждения и снижало уровень реактивных астроцитов в микроглии в дозе 3 мг/кг (в/б) [78]. Показана способность Ro 5-4864 снижать развитие диабетической нейропатии за счет активации нейростероидогенеза в модели на крысах [79].

PK11195

Производное изохинолина PK11195, открытое в 1983 году, явилось первым соединением, не относящимся к классу бензодиазепинов, способным связываться с TSPO с наномолярной аффинностью при отсутствии связывания с ЦБР (рис. 9) [80]. Авторы, впервые опубликовавшие данные о PK11195, не представили в своей работе ход дизайна данной молекулы, на основании чего можно предположить, что оно было открыто путем широкого скрининга. При сопоставлении характеристик связывания соединений PK11195 и Ro 5-4864 с TSPO в мембранах тканей почек крыс с использованием [^{3}H]PK11195 было показано превосходство первого соединения (Ki = 9.3 нМ) перед вторым (Ki = 23.0 нМ) [81]. PK11195 с момента открытия и до настоящего времени широко используется в качестве «золотого стандарта» лигандов TSPO в исследованиях, связанных с этим рецептором. Ряд фармакологических исследований позволяет утверждать, что PK11195 является антагонистом TSPO, так как он блокирует нейропсихотропные эффекты других лигандов TSPO, демонстрирующих агонистические свойства [73, 82–85].

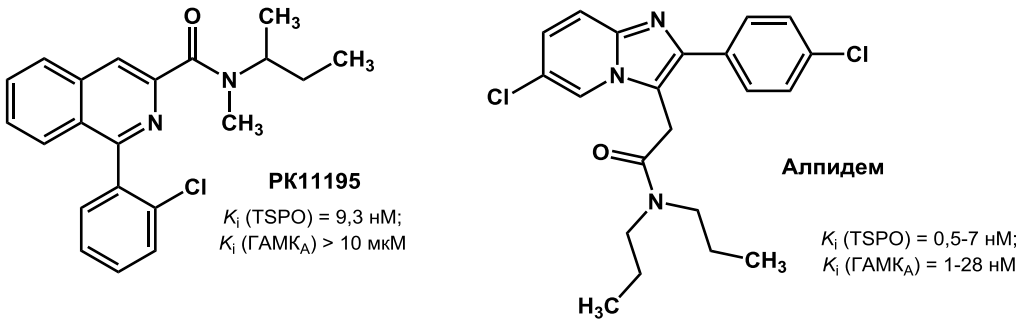


Рисунок 9. Соединения PK11195 и Алпидем

Алпидем

Алпидем – третий лиганд TSPO, ставший впоследствии классическим представителем этой группы (рис. 9). Этот препарат разрабатывался в компании Synthélabo (Франция) в качестве анксиолитического средства в конце 1980-ых – начале 1990-ых годов. Он был внедрен в клинику в 1991 году [86]. Алпидем был выявлен и отобран в ходе широкого скрининга производных имидазо[1,2-а]пиридинов, в котором оценивались анксиолитические, гипнотические, снотворные и противосудорожные свойства этих веществ на животных моделях на грызунах [87]. Позже было установлено, что Алпидем обладает аффинными свойствами как по отношению к TSPO, так и по отношению к ЦБР (K_i 0.5-7 нМ и 1-28 нМ, соответственно) [88]. Алпидем стимулирует образование прегненолона в митохондриях клеток глиомы линии С6-2В. Показано, что анксиолитическое, а также антиконвульсивное действие алпидема обусловлено как его связыванием с ЦБР, так и с TSPO-рецептором с последующим образованием нейростероидов [89]. В 1994 году препарат Алпидем (таблетки, 50 мг активного компонента) был изъят из клиники вследствие обнаружения нарушения функции печени на фоне его прием с несколькими смертельными случаями [90–92]. Следует отметить, что этот побочный эффект может быть обусловлен сродством Алпидема к ГАМК$_A$-рецепторам, которые часто экспрессированы в тканях печени.

Три представленных лиганда TSPO, Ro 5-4864, PK-11195 и Алпидем, явились ключевыми родоначальниками большинства последующих синтетических лигандов TSPO, так как именно отталкиваясь от их структур, происходило конструирование новых молекул и создание фармакофорных моделей структур, обладающих аффинностью к TSPO.

Дизайн лигандов TSPO на базе бензодиазепинов

В начале 1990-ых годов Campiani с соавторами описали группу производных бензотиазепинов, которые разрабатывались в качестве аналогов бензодиазепинов и лигандов ГАМК-рецепторов. Исследование характеристик связывания показало, что ряд

представителей данной группы обладает высокой аффинностью и селективностью к TSPO [93]. Исследователями была сконструирована фармакофорная модель молекул, обладающих лигандными свойствами к TSPO. В нее входят следующие элементы: центроид *opmo*-конденсированного бензольного кольца L1, центроид фенильного заместителя L3, неподеленная пара sp^2 или sp^3 гибридизованного атома кислорода, связанного с тиазепиновым кольцом (H2) и центроид пиррольного фрагмента π1 (рис. 10).

В дальнейшем теми же авторами на основании данных структура-аффинность была предложена 3D-QSAR модель лигандов TSPO, созданная с помощью сравнительного метода анализа молекулярного поля (CoMFA) на множестве из 42 лигандов, относящихся к классу бензотиазепинов. Данная модель оказалась способной рационализировать сродство лигандов по стерическим и электростатическим параметрам со стандартной ошибкой значения pIC_{50} не превышающей 0.648 [94].

С использованием представленной методологии дизайна, группой Campiani в ряду производных бензотиазепинов, были выявлены высокоаффинные лиганды, из которых наибольший потенциал продемонстрировало соединение THIA-4i [95].

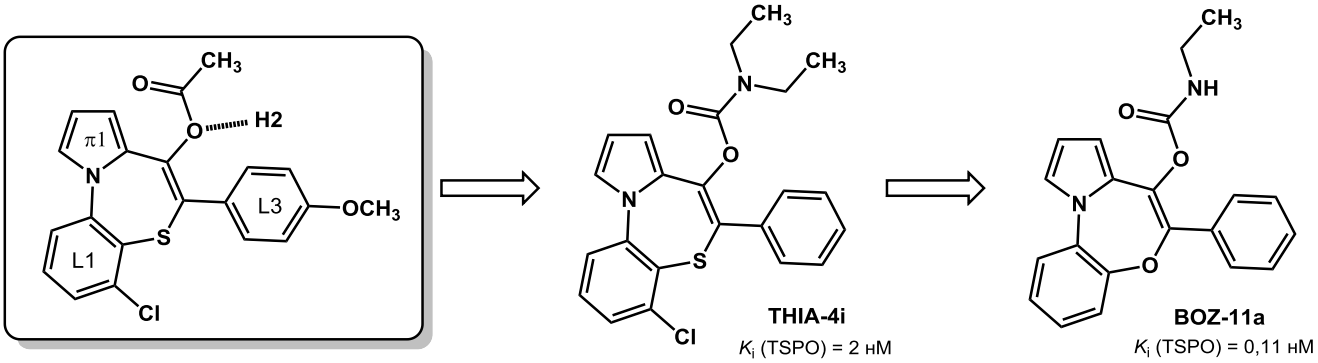


Рисунок 10. Бензотиазепиновые и бензоксазепиновые лиганды TSPO.

В развитие предложенного подхода к дизайну лигандов TSPO, Campiani с соавторами была сконструирована группа ближайших аналогов бензотиазепинов – бензоксазепины, среди которых были выявлены высокоаффинные молекулы. Так, соединение BOZ-11a показало субнаномолярное значение аффинности. Кроме того, оно в концентрации 2 мкмоль/л стимулировало образование прегненолона в клетках Лейдига MA10 с той же эффективностью, что и соединение Ro-5-4864 [96]. Однако не смотря на перспективные результаты по аффинности в разработанных классах, в литературе нет данных о доклинических исследованиях их представителей.

Okubo и Okuyama с соавторами описали открытую ими группу лигандов TSPO - арилоксианилидов, сконструированную на базе бензодиазепинового лиганда Ro-5-4864. Дизайн новой группы осуществлялся путем раскрытия диазепинового цикла и введением в молекулу дополнительного арильного заместителя, что позволило создать

конформационно-свободные лиганды **1.1.1** (рис. 11) [97, 98]. Среди полученных представителей класса арилоксианилидов были выявлены высокоаффинные и высокоселективные к TSPO структуры, например, DAA1106. Эксперимент по оценке связывания соединения DAA1106 с митохондриальной фракцией коркекса обезьян резус показал, что высокое сродство этого соединения к TSPO сохраняется (Kd 0.426 нМ), что свидетельствует об отсутствии видоспецифичности его взаимодействия [99]. В исследовании Briard 2009 года представлены близкие данные по аффинности DAA1106 по отношению к TSPO мозга крыс, обезьян резус, а также человека, составляющие (Ki) 0.0726, 0.230 и 0.242 нМ, соответственно [100].

Соединение DAA1106 показало наличие анксиолитической активности в эксперименте на мышах в тестах ПКЛ и светло-темная камера в дозах 0.1-3.0 мг/кг при пероральном (п/о) введении, не оказывая при этом, в отличие от диазепама и буспирона, влияния на спонтанную двигательную активность [97].

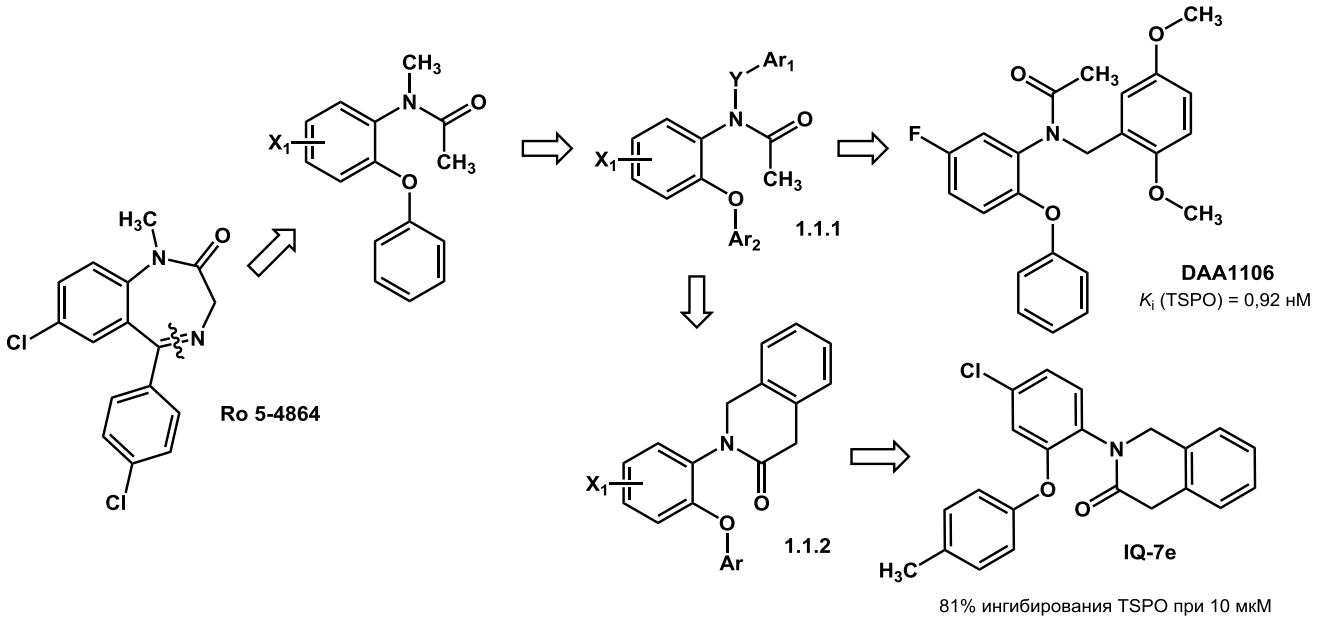


Рисунок 11. Дизайн лигандов TSPO в ряду арилоксианилидов путем раскрытия бензодиазепинового цикла соединения Ro-5-4864 и последующей модификации.

В 2017 году исследовательская группа Elkamhawy разработала серию производных изохинолинонов **1.1.2**, дизайн которых был осуществлен посредством замыкания кольца в производных арилоксианилида **1.1.1** с использованием ацетильной группы при атоме азота и *орто*-положения ароматического заместителя Ar_1. Среди соединений группы **1.1.2** было получено вещество IQ-7e, обладавшее микромолярной константой связывания с TSPO и способное эффективно блокировать открытие митохондриальной mPTP-поры, на основании чего был сделан вывод об его перспективности для развития в качестве нейропротекторного средства [101].

Группа ученых из Японии из компании Dainippon Pharmaceutical Co. предложила новый тип лигандов TSPO на базе пуринового гетероцикла. К сожалению, авторами не представлен ход дизайна новой группы, однако можно предположить, что конструирование велось по пути, представленном сотрудниками этой же компании в последующих работах по поиску новых лигандов TSPO (см. ниже – бензоксазолоновый лиганд BOZ-74), а именно, путем размыкания диазепинового цикла модельного лиганда Ro-5-4864 и заменой ароматического остова пуриновым гетероциклом (см. схему по конструированию BOZ-74). В качестве наиболее перспективной молекулы в ряду пуриновых производных было отобрано соединение AC-5216 (рис. 12) [85], получившее впоследствии также шифр XBD173 и название Эмапунил. Данное вещество обладает субнаномолярной аффинность к TSPO и высокой селективностью. При этом аффинность AC-5216 была продемонстрирована как к TSPO в мозге крыс (Ki 0.297 нМ) и клетках глиомы крыс (IC_{50} 3.04 нМ), так и в клетках глиомы человека (IC_{50} 2.73 нМ). AC-5216 показал противотревожный эффект в тесте Фогеля у крыс (в дозах 0.1-3.0 мг/кг, п/о) и в тестах «светло-темная камера» (в дозах 0.003-0.01 мг/кг, п/о) и «социальное взаимодействие» (в дозах 0.01-0.3 мг/кг, п/о) у мышей, причем эффекты соединения полностью блокировались действием антагонистом TSPO – соединением PK11195. Выраженность эффектов AC-5216 была на уровне активности диазепама в аналогичных дозах. Также AC-5216 продемонстрировал антидепрессивную активность в дозах 3.0-30.0 мг/кг (п/о) в тесте вынужденного плавания у крыс, этот эффект также снимался действием PK11195. Выраженность антидепрессивного действия AC-5216 превышала эффект препарата дезипрамина в дозе 30 мг/кг (п/о). В отличие от бензодиазепинов, AC-5216 не обладал миорелаксантным действием, не оказывал влияния на память и на гексобарбиталовой сон у мышей, не вносил существенных изменений в электроэнцефалограмму крыс [85]. В следующей публикации японских авторов было установлено, что анксиолитическое действие AC-5216 ингибируется трилостаном, финастеридом (ингибиторы биосинтеза нейростероидов) и пикротоксином (блокатор ионного канала $ГАМК_A$-рецептора), что свидетельствует о реализации эффектов соединения через активацию стероидогенеза [102]. В эксперименте по хроническому введению AC-5216 мышам установлено, что он не вызывает зависимости и синдрома отмены, кроме того, он не приводит к потере массы тела [103].

В публикации Rupprecht описана способность AC-5216 предотвращать панические атаки у грызунов при отсутствии седативных свойств и развития толерантности [104]. В эксперименте на людях установлено, что AC-5216 (прием по 90 мг препарата в течение 7 дней) проявляет анксиолитическую и антипаническую активность у здоровых

добровольцев при использовании экспериментальной модели CCK4-индуцированной тревоги (тревоги, индуцированной тетрапептидом холецистокинина) [104]. На модели посттравматического стрессового расстройства у мышей выявлена анти-ПТСР активность АС-5216 [105]. Также, АС-5216 активировал биосинтез прегненолона в клетках глиомы крыс линии С6 и в клетках микроглии мышей BV-2, а также приводил к увеличению экспрессии TSPO [106].

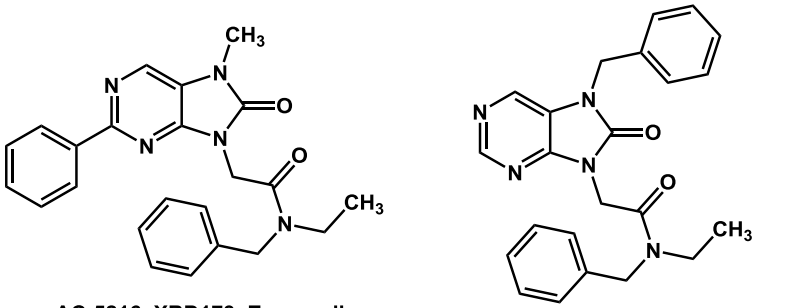


Рисунок 12. Пуриновые лиганды TSPO: AC-5216 (XBD173, Emapunil) и ZBD-2

Соединение АС-5216 доведено компанией Novartis до II фазы клинических исследований в качестве средства для лечения генерализованных тревожных расстройств (ClinicalTrials.gov identifier: NCT00108836). В этом неопубликованном исследовании АС-5216 не показал различий с плацебо в лечении тревожных расстройств. Отсутствие активности во II стадии, возможно, связано с выбором неподходящей модели заболевания: CCK4-индуцированная тревога в большей степени моделирует панические расстройства, чем генерализованные тревожные расстройства.

Еще одним перспективным лигандом TSPO в ряду производных пуринов является молекула ZBD-2, отличающаяся от АС-5216 наличием бензильного заместителя вместо метильного в седьмом положении гетероцикла [107]. Этот высокоаффинный лиганд продемонстрировал анксиолитическую активность на модели хронической боли у мышей в дозах 0.15-1.5 мг/кг (п/о) [107]. ZBD-2 показал также нейропротективный эффект в моделях очаговой ишемии головного мозга и NMDA-индуцированной нейротоксичности [108].

В 2012 году группа ученых из компании Dainippon Sumitomo Pharma Co. описали группу высокоаффинных и селективных лигандов TSPO, относящихся к классу бензоксазолонов **1.1.3**. Дизайн нового класса осуществлялся путем структурного преобразования бензодиазепинового лиганда Ro5-4864 (рис. 13). При этом диазепиновый цикл был разомкнут, а иминный фрагмент был заменен на оксазолоновый гетероцикл [109]. Заместители в образовавшемся остове были широко проварьированы.

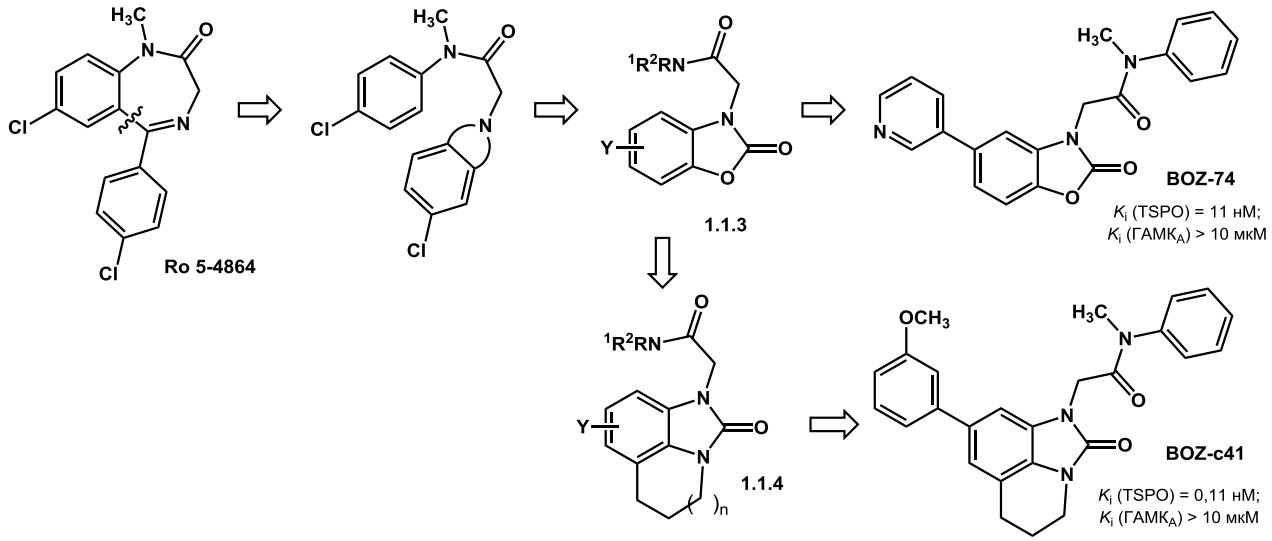


Рисунок 13. Дизайн лигандов TSPO в ряду производных бензоксазолонов путем раскрытия бензодиазепинового цикла соединения Ro-5-4864 и последующей модификации.

Наибольший потенциал в группе бензоксазолонов продемонстрировало соединение BOZ-74. Это соединение показало в дозе 10 мг/кг (п/о) выраженную анксиолитическую активность у крыс в тесте Фогеля [109]. Кроме того, BOZ-74 обладало хорошими фармакокинетическими показателями, демонстрируя метаболическую активность в печени крысы и человека и способность проникать в мозг при п/о введении крысам.

В последующей работе тех же авторов ими было предложено модифицировать структуру бициклов **1.1.3** до трициклов **1.1.4** с заменой атома кислорода на азот. Среди соединений новой группы было получена молекула BOZ-c41 с субнаномолярной аффинностью к TSPO [110].

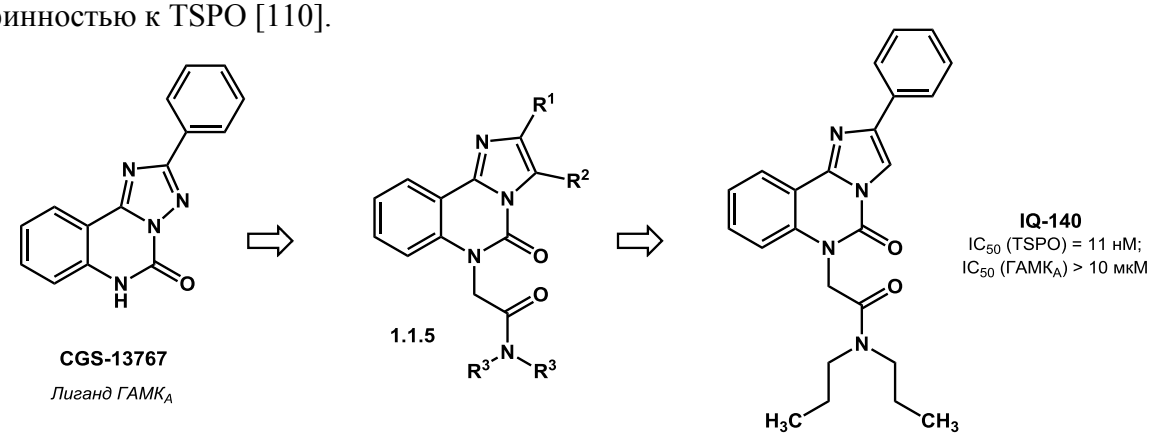


Рисунок 14. Дизайн имидазо[1,2-*c*]хиназолиновых лигандов TSPO путем структурной модификации ГАМК$_A$-лиганда CGS-13767.

Основываясь на опыте конструирования лигандов TSPO на базе структур лигандов ГАМК$_A$-рецептора Hallé с соавторами в 2017 году предприняли осуществить подобный дизайн на без структуры небензодиазепинового селективного ГАМК$_A$-лиганда CGS-13767 (рис. 14). При этом в структуру этого соединения было предложено ввести характерную для TSPO-лигандов амидную группу, связанную с основным гетероциклом через

метиленовое звено. Это привело к созданию группы **1.1.5**, в ряду который действительно были выявлены высокоаффинные и селективные TSPO-лиганды. Одними из лучших характеристик обладало соединение IQ-140 с IC_{50}(TSPO) 11 нМ. На клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y была установлена способность IQ-140 стимулировать выработку АТФ и биосинтез прегненолона [111].

Дизайн лигандов TSPO на базе структуры PK11195.

Соединение PK11195 явилось отправной точкой в дизайне и моделирования целого ряда родственных ему лигандов TSPO. Так, Cappelli с соавторами был осуществлен систематический подход к дизайну новых лигандов TSPO путем создания конформационно-жестких производных PK11195 (рис. 15). Для этого был создан пространный пул молекул с определенными значениями диэдральных углов между ключевыми фармакофорными элементами молекул: карбонильной группой, ароматическим заместителем и другими (**1.1.6-1.1.10**) [112].

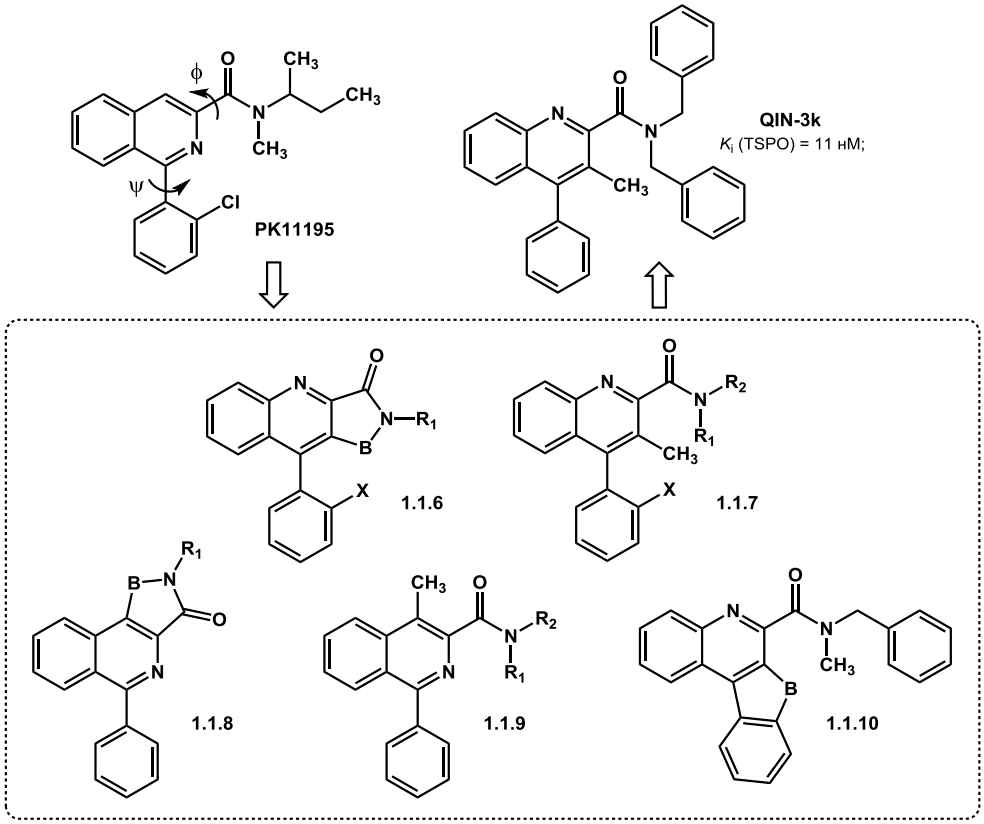


Рисунок 15. Конформационно-жесткие производные PK11195, сконструированные для уточнения фармакофорной модели лигандов TSPO.

Использование данного подхода позволило установить, что для достижения значений высокой аффинности к TSPO молекула должна обладать следующими характеристиками: карбонильная группа должна располагаться под диэдральным углом в диапазоне от 80 до 110° по отношению к гетероциклическому остову, что указывает на принципиальное участие этого фрагмента в образовании водородной связи с подходящей

аминокислотой в рецепторе, кроме того, угол поворота ароматического заместителя не играет существенной роли в лигандных свойствах молекул; анализ состава амидных групп привел к выводу, что для наличия высокой аффинности необходима объемная липофильная третичная амидная группа, в то время, как вторичные амиды обладают существенной худшими свойствами. Наконец, изменение положения гетероциклического атома азота не оказывает существенное значение на аффинность молекул.

С использованием представленного подхода группой Cappelli было создано производное хинолинов QIN-3k, которое обладает высокой аффинностью к TSPO и существенно увеличивает уровень прегненолона, прогестерона и аллопрегнанолона в кортексе и в плазме крыс в сравнении с контролем [113].

В 2014 году в продолжение исследований аналогов PK11195 с целью создания высокоаффинных и эффективных молекул была предпринята попытка создания 3D-фармакофорной модели лигандов TSPO с использованием пакета PHASE программного обеспечения Maestro из Schrödinger 9.1 (рис. 16) [114]. В состав предложенной модели входит акцептор водородной связи (красная сфера A), три ароматических кольца (оранжевые кольца R1, R2, R3) и функции дизамещенного амида (голубые сферы X1 и X2). Кроме того, в модель были добавлены фармакофоры, учитывающие замещение в хиназолиновом кольце и циклические амидные группы (желтые сферы). Для всех фармакофорных элементов в данной модели были заданы четкие пространственные характеристики. С использованием описанного подхода авторами был сконструирован ряд производных хиназолинов, среди которых можно выделить соединение QZ-19, которое обладает субнаномолярной аффинностью к TSPO и показало антипролиферативную активность на клеточной линии U343 глиобластомы человека [114].

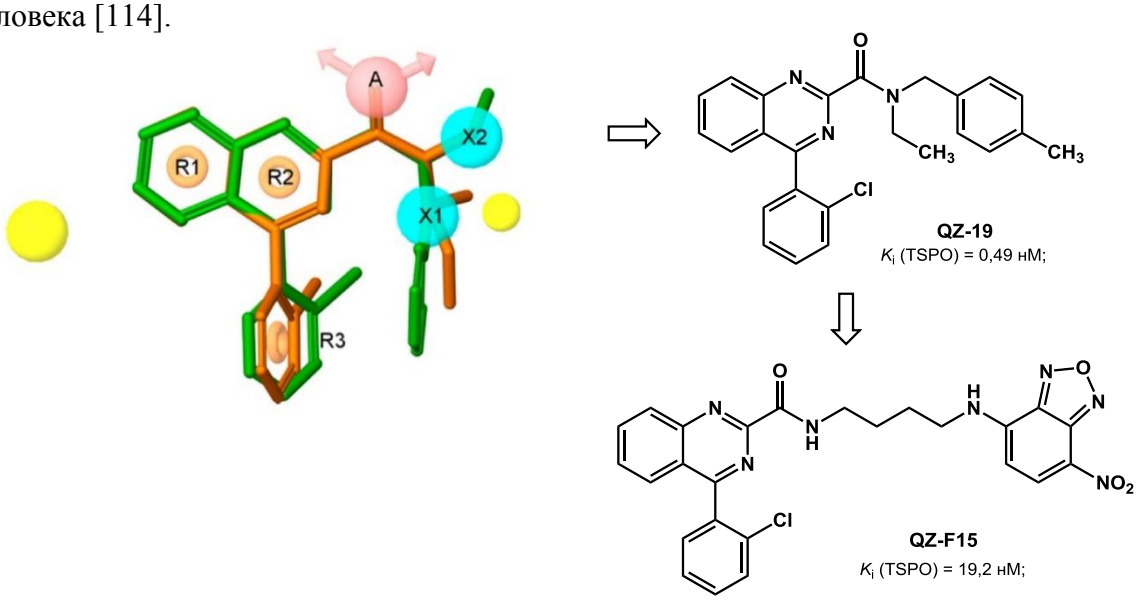


Рисунок 16. Дизайн хиназолиновых лигандов TSPO.

В 2017 году с целью получения лиганда TSPO с флуоресцентной меткой на базе хиназолинов такого же фармакофорного строения было получено вещество QZ-F15 с нитробензофуразановым фрагментом, обеспечивающим флуоресценцию. Несмотря на достаточно существенное изменение амидного фрагмента, данное соединение обладало достаточно высокой аффинностью к TSPO. Результаты флуоресцентной микроскопии показали, что QZ-F15 специфически метит TSPO на митохондриальном уровне в клеточной линии U343 [115].

Дизайн лигандов TSPO на базе структуры Алпидема.

В 1997 году Trapani с соавторами опубликовали исследование ряда производных Алпидема на базе его имидазопиридинового ядра, направленное на создание в этом ряду селективных лигандов TSPO [116].

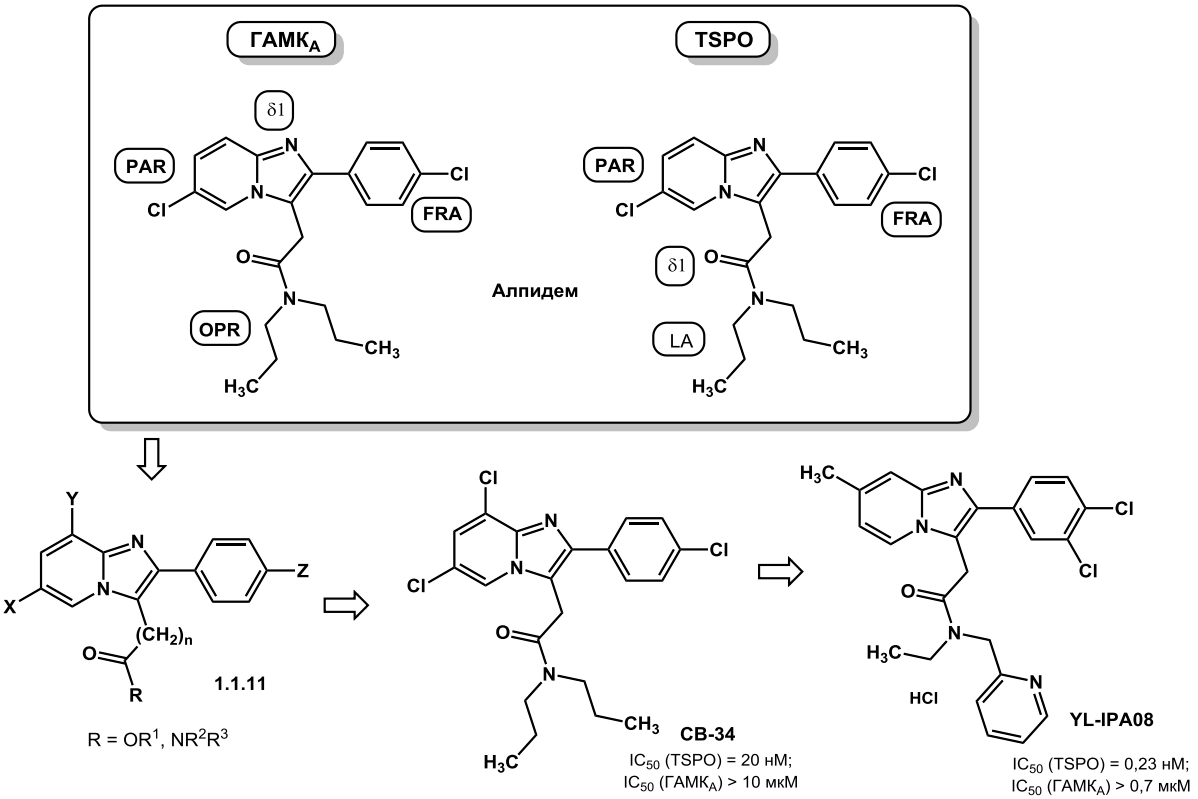


Рисунок 17. Сопоставление фармакофорных моделей лигандов ГАМК$_A$ и TSPO на примере молекулы Алпидема, использовавшееся для дизайна имидазопиридиновых лигандов TSPO.

При этом для создания новых молекул Trapani использовал подход модификации базовой молекулы Алпидема путем варьирования заместителей X, Y, Z и R гетероциклического остова (рис. 17). Дизайн молекул осуществлялся на базе фармакофорной модели, предложенной Bourguignon и Wermuth для лигандов TSPO [89, 117]. Эта модель основана на предположении, что Алпидем принимает две различные конформации при взаимодействии с TSPO и ЦБР за счет различного пространственного

расположения амидного заместителя. На рис. 17 схематично представлено сопоставление моделей взаимодействия Алпидема с TSPO и ЦБР. Названия областей приведено с использованием номенклатуры, предложенной Wermuth [118]: FRA, freely rotating aromatic ring region – область свободного вращения ароматического кольца, δ1, electron-rich zone – электронно-обогащенная зона, OPR, out-plane region – область вне плоскости, PAR, planar aromatic region – плоская ароматическая область; LA, lipophilic area – липофильная область. Bourguignon предложил модель взаимодействия с TSPO очень похожую на модель для ЦБР путем перемещения основных фармакофорных элементов.

При помощи представленного подхода Trapani был создан ряд новых лигандов TSPO **1.1.11**, обладающих высокой аффинностью и селективностью. Одним из таких соединений явилось СВ-34, отличающееся от Алпидема наличием второго атома хлора в имидазопиридиновом цикле. Было установлено, что СВ-34 эффективно стимулирует нейростероидогенез, увеличивая концентрации прегненолона, прогестерона, аллопрегнанолона и аллотетрагидродеоксикортикостерона в плазме крови и мозге крыс [119]. В тесте Фогеля СВ-34 проявляет выраженное антиконфликтное действие в дозах 25 и 50 мг/кг (в/б), сопоставимое по выраженности с эффектом диазепама в дозе 0.5 мг/кг.

Используя подход по конструированию структурных аналогов Алпидема, в 2014 году Zhang с соавторами получили еще одно производное имидазопиридина - YL-IPA08, обладающее субнаномолярной аффинностью к TSPO и высокой селективностью [82]. Это соединение увеличивает концентрации прегненолона и прогестерона в клетках астроцитов крыс. Производное YL-IPA08 в интервале доз от 0.1 до 10 мг/кг (п/о или в/б) демонстрирует антидепрессивный эффект на моделях принудительного плавания у крыс и мышей и в тесте «подвешивание за хвост» у мышей, а также анксиолитический эффект в тестах Фогеля у крыс, в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) у мышей и в тесте «подавление нового подкрепления» на мышах. При этом активность этого соединения блокируется предварительным введением антагониста TSPO PK11195 и не снимается антагонистами ЦБР. При сопоставлении с анксиолитиком диазепамом было установлено, что в отличие от последнего, YL-IPA08 не обладает миорелаксирующим действием, не влияет на двигательную координацию, память и на индуцированный гексобарбиталом сон у мышей. Также было установлено, что YL-IPA08 демонстрирует анксиолитическую активность в моделях посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) у мышей, причем анти-ПТСР эффект блокируется антагонистом TSPO PK11195 [83].

Класс пиразолопиримидновых лигандов TSPO **1.1.12** был сконструирован в качестве азаизостеров Алпидема и его аналогов с учетом данных, полученных для

имидазопиридиновых производных (рис. 18). Данный класс был предложен в 2001 году Selleri с соавторами [81]. Представитель класса DPA-714 показал наномолярное значение аффинности к TSPO и высокую селективность, он существенно увеличивал содержание прегненолона в клетках глиомы крыс С6 [120]. Изучение нейропротективной активности соединения DPA-714 в модели эксайтотоксической нейродегенерации, вызванной хинолиновой кислотой, у крыс, показали, что оно обладает протекторным действием, снижая активацию микроглии [121].

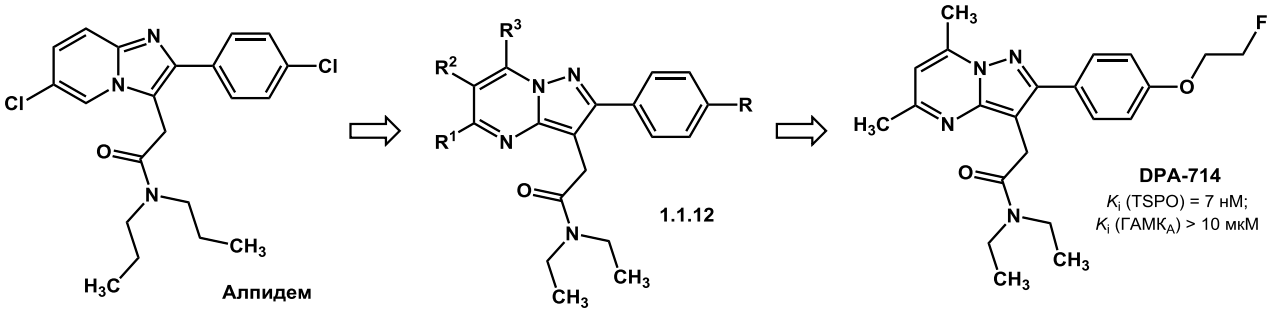


Рисунок 18. Дизайн азаизостеров Алпидема в ряду пиразолопиримиднов.

Поиск лигандов TSPO в ряду производных индола был начат Kozikowski и Romeo с коллегами в 1992-1993 годах [84, 122]. Авторы не указывают в работе, какой подход был использован для дизайна новых молекул, однако структурная близость общей формулы предложенных производных индола с Алпидемом позволяет сделать предположение, что конструирование осуществлялось на базе его структуры. В ряду производных индола было открыто соединение FGIN 1-27, ставшее впоследствии одним из эталонных лигандов TSPO. Это соединение показало высокое значение аффинности к TSPO и высокую эффективность в активации стероидогенеза. FGIN 1-27 стимулировало синтез прегненолона более чем на 200% относительно контроля. Также было установлено, что антагонист TSPO PK11195 ингибирует аккумуляцию прегненолона производным FGIN-1-27 [84]. FGIN 1-27 в дозе 0.5 мг/кг (п/о) проявил антинеофобическое действие в тесте ПКЛ, значимо увеличивают количество заходов в открытые рукава лабиринта и процент времени пребывания в открытых рукавах крыс при п/о введении. Было установлено, что антинеофобический эффект FGIN-1-27 в тесте ПКЛ обусловлен именно его лигандными свойствами по отношению к TSPO. Так, селективный лиганд TSPO PK11195, не проявляющий собственного эффекта в ПКЛ, блокировал антинеофобическое действие FGIN-1-27, не оказывая влияния на эффект диазепама. В то же время, активность FGIN-1-27 практически не изменялась под действием антагониста ГАМК$_A$ флумазенила, который полностью снимал эффект диазепама.

Для оценки вовлеченности рецепторов TSPO периферических тканей в реализации *in vivo* эффектов FGIN-1-27 был проведен эксперимент по сопоставлению

антинеофобического эффекта этого вещества у крыс, подвергнутых адреналэктомии и кастрации, что исключало участие периферических стероидных гормонов в активности соединения. Результаты эксперимента продемонстрировали отсутствие изменений в поведении животных, подвергнутых операциям, что указывает на вовлеченность именно мозгового TSPO в развитие антинеофобического эффекта FGIN-1-27.

Изучение анксиолитико-подобного действия FGIN-1-27 в тесте Фогеля при внутривенном (в/в) введении показало наличие выраженного антиконфликтного эффекта этого соединения в дозах 0.13-0.5 мг/кг [123]. Кроме того, FGIN-1-27 в дозе 2.5 мг/кг (в/в) продемонстрировал антиконвульсивную активность на моделях конвульсий у крыс, вызванных изониазидом и метразолом. Анксиолитическое и антиконвульсивное действие FGIN-1-27 полностью блокировалось PK11195, и не снималось флумазенилом, демонстрируя вовлеченность TSPO в реализацию фармакологических эффектов соединения.

В 2000 году Bitran с соавторами показали наличие анксиолитико-подобного эффекта FGIN-1-27 при интрагиппокампальном методе введения (2.5 мкг/животное) в тестах ПКЛ и в тесте закапывания шариков у крыс [124]. При этом активность этого соединения ослаблялась под действием PK11195 и блокировалась действием пикротоксина – блокатора ионного канала $ГАМК_A$-рецептора, и 4-MA – ингибитора 5α-редуктазы. В то же время флумазенил не оказывал эффекта на активность FGIN-1-27. Также показано, что FGIN-1-27 увеличивает уровень аллопрегнанолона в гиппокампе и в крови. Полученные данные наглядно свидетельствуют о реализации противотревожного действия FGIN-1-27 через взаимодействие с TSPO и через активацию нейростероидогенеза.

Подробно исследованное соединение FGIN-1-27 явилось базовой структурой для дизайна целого ряда новых подклассов лигандов TSPO. Так, Da Settimo с группой был получен ряд индолилглиоксиламидных аналогов FGIN-1-27 **1.1.13**, для конструирования которых была предложена фармакофорная модель, предполагающая наличие трех липофильных участков (L1-L3) и донора водородной связи (H1) (рис. 19) [125]. Среди полученных структур следует отметить соединение IND-32, показавшее наномолярную аффинность к TSPO и высокую селективность. Это вещество показало высокую стероидогенную активность, увеличивая уровень прегненолона в клетках глиомы крыс линии C6 на 171%, а также продемонстрировало анксиолитическую активность в тесте ПКЛ, значимо увеличивая процент времени пребывания животных и количества входов в открытые рукава лабиринта в дозе 30 мг/кг (в/б) [125].

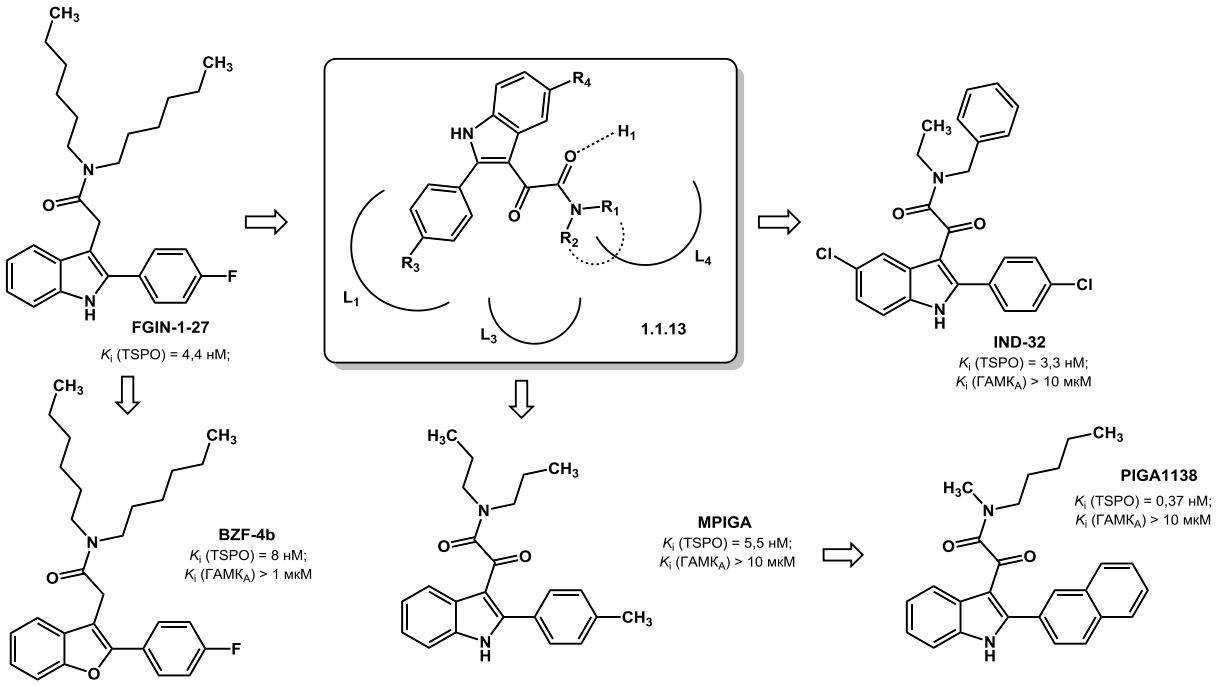


Рисунок 19. Дизайн индолилглиоксиламидных лигандов TSPO. Бензофурановый аналог FGIN-1-27 – соединение BZF-4b

Еще одним перспективным индолилглиоксиламидным лигандом TSPO является соединение MPIGA [126]. Это соединение, обладая хорошим лигандным профилем, показало способность активировать биосинтез как прегненолона, так и его метаболитов прогестерона и аллопрегнанолона, которые являются основными положительными аллостерическими модуляторами ГАМК$_A$-рецептора, в клетках астроцитомы человека линии ADF. Также MPIGA через активацию стероидогенеза усиливал захват анионов $^{36}Cl^-$ в синапто-нейросомах коры головного мозга. Установлено, что MPIGA проявляет выраженный анксиолитический эффект у крыс в тесте ПКЛ в дозе 30 мг/кг при в/б введении, увеличивая процент заходов в открытые рукава лабиринта и время пребывания в них.

В более позднем исследовании группы Da Settimo, в котором широко варьировались ароматические заместители в области липофильного участка L1, было выявлено соединение PIGA1138 с 2-нафтильной группой. Обладая субнаномолярной аффинностью к TSPO, это соединение в высокой степени активировало синтез прегненолона (на 245% в клетках глиомы крыс C6 и на 299% в клетках человека линии U87MG относительно контроля) и способствовало активации окислительного метаболизма в нормальных астроцитах человека [127, 128]. В дозе 30 мг/кг соединение PIGA1138 при в/б введении обладало значимым анксиолитическим действием в тесте ПКЛ [129]. Следует отметить, что авторами было выдвинуто предположение о том, что ключевым фактором надежной стероидогенной эффективности лигандов TSPO является

не столько аффинность связывания сама по себе, а скорее время, которое соединение проводит в мишени, а именно его «время пребывания» (Residence Time, RT). Оценка этого кинетического параметра при анализе соединений *in vitro* по мнению ученых представляется обязательной для получения соотношений структура-эффективность [130, 131].

В 1998 году Liao с соавторами представили класс аналогов индольных лигандов TSPO на базе бензофуранового гетероцикла [132], созданных методом структурной аналогии. За прототип новых структур была взята молекула FGIN-1-27. Было установлено, что бензофурановый аналог FGIN-1-27 BZF-4b проявляет хорошие лигандные и фармакологические свойства, сопоставимые с эффектами прототипа. Это соединение так же, как и FGIN-1-27 показало наномолярную аффинность к TSPO и высокую селективность. У BZF-4b в дозе 25 мг/кг (п/о) была выявлена выраженная антинеофобическая активность: соединение значимо увеличивало количество заходов крыс в открытые рукава лабиринта и процент времени пребывания в открытых рукавах.

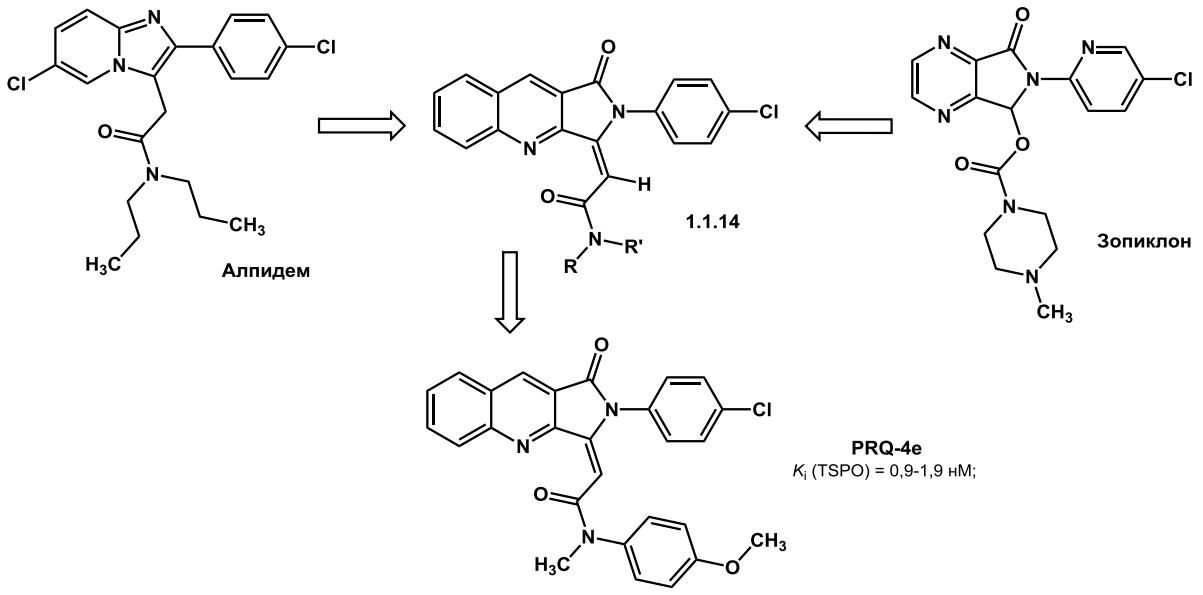


Рисунок 20. Дизайн пирролохинолиновых лигандов TSPO путем комбинирования структур алпидема и зопиклона.

Группой Cappelli с соавторами была предложена группа пирролохинолиновых лигандов TSPO **1.1.14** [133, 134]. В дизайне нового класса был применен метод структурного комбинирования препаратов алпидем и зопиклон (рис. 20). Алпидем, как уже было отмечено выше, обладает высоким сродством как к TSPO, так и к CBR, в то время как зопиклон обладает высокой аффинностью по отношению к CBR, однако его сродство к TSPO минимально. В конструировании новой группы авторы использовали подход по построению селективных лигандов из неселективных родоначальных молекул.

В процессе комбинирования алпидема и зопиклона оставлялось минимальное количество функций, ответственных за связывание с обоими рецепторами, варьируя геометрию и липофильность боковых цепей. Кроме того, сродство молекул к TSPO увеличивалось путем добавления конденсированного бензольного кольца.

Среди серии полученных соединений были выявлены структуры с отличными лигандными характеристиками. Одной из наиболее высокоаффинных молекул явилось соединение PRQ-4e. Исследования влияния данных соединений на нейростероидогенез и in vivo активность не проводилось.

Ferzaz с соавторами в 2002 году был представлен алпидем-родственный лиганд TSPO SSR180575 – представитель группы пиридазиноиндолов (рис. 21) [135]. В работе не представлен подход к конструированию данной молекулы, однако по ее структуре можно предположить, что в дизайне соединения использовался метод структурной аналогии. Высокоаффинное и селективное соединение SSR180575 показало способность существенно увеличивать уровень прегненолона в мозге и седалищном нерве. SSR180575 проявило нейропротективные и нейрорегенеративные свойства на модели нейродегенерации двигательного нерва при аксотомии лицевого нерва у молодых крыс и на модели нейропатии, индуцированной акриламидом, у крыс. В 2007 году компанией Sanofi–Aventis была инициирована II стадия клинический исследований SSR180575 в качестве средства для регенерации эпидермальных нервных волокон у больных с периферической диабетической нейропатией (ClinicalTrials.gov identifier: NCT00502515). Результаты не представлены, КИ завершено в 2009.

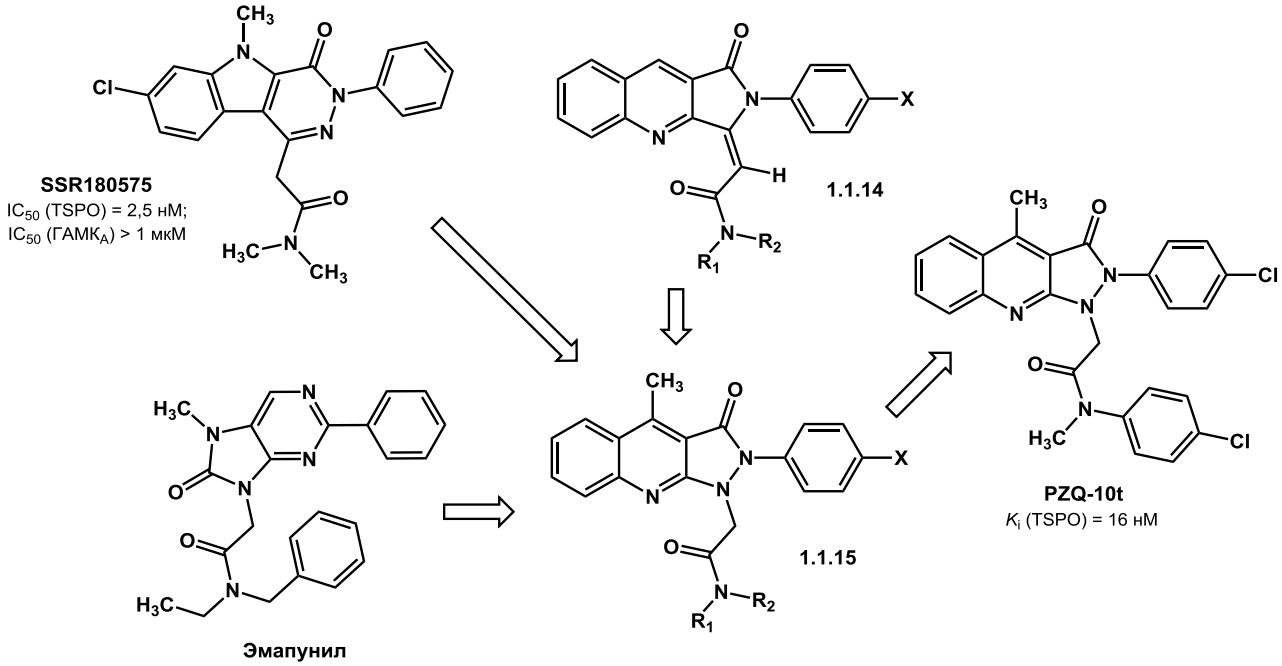


Рисунок 21. Дизайн пиразолохинолиновых лигандов TSPO путем комбинирования структур эмапунила, SSR180575 и пирролохинолиновых лигандов.

В 2011 году Cappelli с соавторами описали группу пиразолохинолиновых лигандов TSPO **1.1.15**, сконструированных методом фармакофорного комбинирования с использованием молекул эмапунила, SSR180575 и пирролохинолинов **1.1.14** в качестве модельных структур (рис. 21) [136]. Наибольший потенциал по соотношению in vitro и in vivo активности среди новой группы продемонстрировало соединение PZQ-10t. Оно обладает наномолярной аффинностью к TSPO и показало анксиолитическую активность в тесте светло-темная камера (в дозах 3.0 и 10 мг/кг, п/о) на мышах и нейропротективную активность в модели мононевропатии (в дозах 5.0 и 50 мг/кг, п/о) на крысах.

В 2017 году было опубликовано исследование Kim с соавторами, в котором на базе двух фармакофорных моделей, сгенерированных с использованием программы Catalyst/HipHop и пяти известных TSPO-лигандов (FGIN-1-27, CB-34, DAA1097, DAA1106, PK-11195), был проведен виртуальный скрининг коммерческих библиотек Asinex и ChemDiv, в результате чего была идентифицирована алпидем-подобная молекула VS008, обладавшая хорошим соответствием одной из фармакофорных моделей (рис. 22). На основании структуры VS008 авторами была предложена группа бензимидазолов **1.1.16**, содержащих анилидный фрагмент [137]. В соединениях данной группы присутствуют все три необходимые гидрофобные фармакофоры и донор пары электронов для водородной связи.

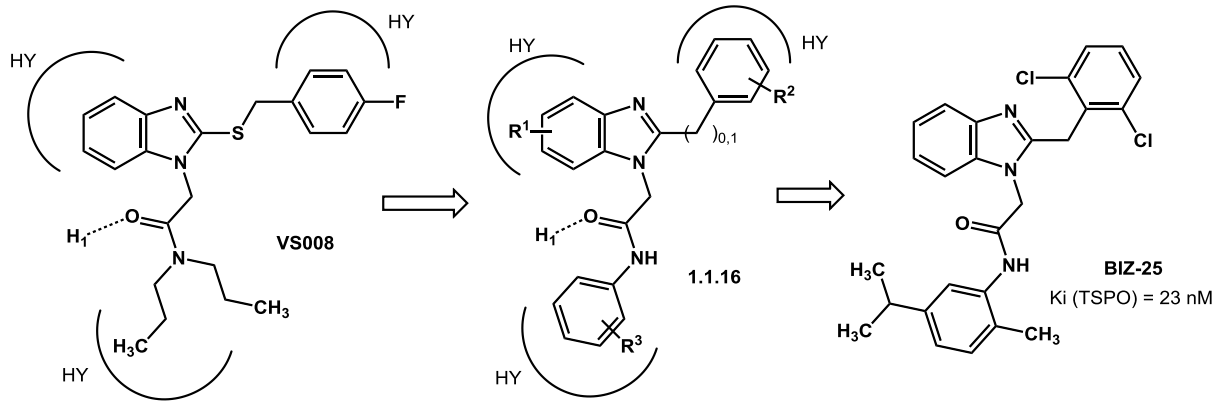


Рисунок 22. Соединение VS008, отобранное в виртуальном скрининге по фармакофорным моделям лигандов TSPO. Сконструированные на его основе производные бензимидазола **1.1.16**. HY – гидрофобная группа. H1 – акцептор водородной связи.

Соединение BIZ-25 из новой группы обладало наномолярной аффинностью к TSPO. Также было показано, что BIZ-25 способно восстанавливать мембранный потенциал митохондрий ($\Delta\Psi m$), восстанавливать более 50% продукции АТФ, поддерживая жизнеспособность клеток HT22. Это соединение ингибировало цитотоксический эффект, вызванный амилоидом Aβ, и подавляло образование активных форм кислорода. В модели болезни Альцгеймера с использованием Y-образного

лабиринта BIZ-25 в дозе 30 мг/кг улучшало функции пространственной рабочей памяти мышей за счет устранения когнитивного дефицита, вызванного амилоидом Aβ. Нейропротекторные свойства соединения были подтверждены и в трансгенной модели болезни Альцгеймера на мышах APPswe/PSEN1dE9 2X, у которых BIZ-25 предотвращало развитие дефицита внимания и памяти.

Трициклические лиганды TSPO

В недавних исследованиях группы Kassiou было предложено несколько групп лигандов TSPO нового хемотипа (рис. 23). Их особенностью являлось то, что ароматические группы, которые в подавляющем большинстве ранее описанных лигандов были связаны через одну или более свободно вращающихся связей, в данном случае были объединены в одной объемной жесткой трициклической системе. При этом основной целью, преследуемой авторами, было исследование структурных требований, необходимых для получения лигандов TSPO с высоким сродством как к WT TSPO, так и к A147T TSPO (недискриминирующих лигандов). Действительно, получение лигандов с близкими значениями связывания с TSPO различных типов позволило бы избежать риска неравномерного ответа пациентов на терапию с их использованием. Между тем, для большинства известных лигандов TSPO аффинность к указанным подтипам этого белка различается более чем на порядок.

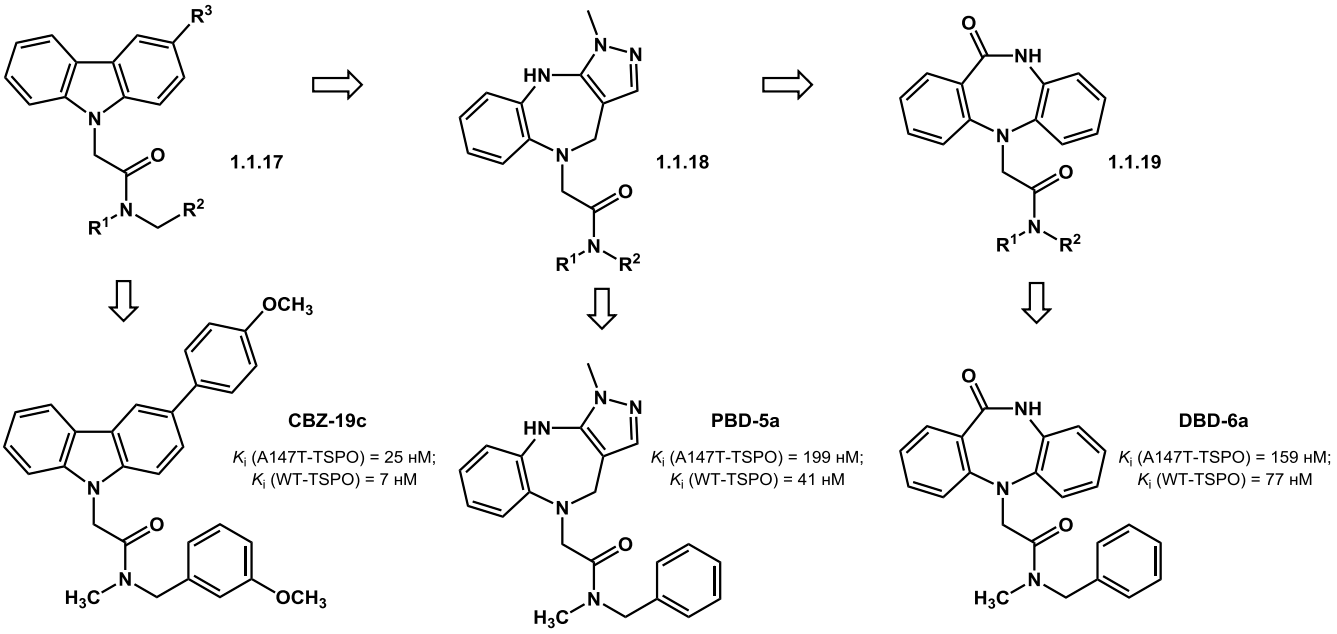


Рисунок 23. Трициклические «недискриминирующие» лиганды TSPO.

На первом этапе авторами была предложена группа производных карбазола **1.1.17**. Среди веществ этой группы было выявлено несколько недискриминирующих лигандов с близкими значениями аффинности к различным подтипам TSPO. Одними из лучших

характеристик обладало соединение CBZ-19c, у которого соотношение констант связывания составляло менее 4 [138]. В работе 2020 года группой Kassiou были получены пиразолобензодиазепины **1.1.18** и дибензодиазепины **1.1.19**. Несмотря на то, что в целом соединения этих групп оказались несколько менее аффинными к TSPO, среди них были обнаружены структуры с весьма небольшими различиями в сродстве к различным подтипам этого белка. Так, соединение PBD-5a имело K_i(A147T-TSPO) = 199 нМ и K_i(WT-TSPO) = 41 нМ. А для вещества DBD-6a соотношение констант связывания составляло лишь 2.1. Следует отметить, что экспериментальные данные во многом были подтверждены с использованием молекулярного моделирования и соответствующих структур белков TSPO [139].

Этифоксин

Одним из лигандов TSPO, использующихся в клинике, является препарат Этифоксин – производное бензоксазинов (рис. 24). Этот препарат был разработан немецкой компанией Hoechst AG еще в 1960-ых годах, и его лигандные свойства к TSPO были выявлены существенно позднее. Этифоксин используется в качестве небензодиазепинового анксиолитического и антиконвульсивного средства в виде таблеток, содержащих 50 мг активного вещества. Этот препарат имеет комплексный механизм действия, сочетающий его взаимодействие как с TSPO, так и с ГАМК$_A$-рецептором [140, 141].

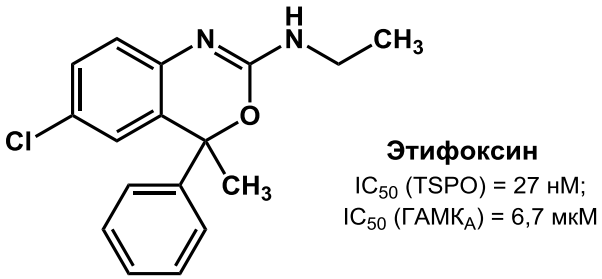


Рисунок 24. Структура Этифоксина.

Этифоксин увеличивает концентрации нейростероидов (прегненолона, прогестерона, 5α-дигидропрогестерона и аллопрегнанолона) в мозге и в плазме крыс. При этом финастерид, один из ингибиторов биосинтеза нейростероидов, ослабляет антиконфликтное действие этифоксина [141]. В работе Wolf с соавторами было отмечено, что, не смотря на не очень высокие лигандные свойства этифоксина к TSPO, он существенно лучше активирует нейростероидогенез чем пуриновый высокоаффинный лиганд AC-5216 [106]. Ugale с использованием ингибиторного анализа показал, что анксиолитический эффект этифоксина у крыс в тесте ПКЛ обусловлен способностью этого препарата активировать биосинтез нейростероида аллопрегнанолона [142].

Показано, что этифоксин благодаря своим лигандным свойствам к TSPO снимает симптомы нейропатической боли у крыс за счет своей способности активировать образование 3α-восстановленных нейростероидов [143]. Этифоксин доказал свою эффективность в клинике в качестве препарата для лечения тревожных расстройств. По выраженности действия этифоксин демонстрирует активность сопоставимую с бензодиазепином лоразепамом [144].

1.3. Противосудорожные средства и подходы к их конструированию

1.3.1. Эпилепсия и противосудорожные средства, применяемые в практике

По оценкам ВОЗ и эпидемиологических исследований, около 50-70 миллионов человек во всем мире страдают эпилепсией, что делает ее вторым по распространенности неврологическим заболеванием после инсульта [4, 5].

Несмотря на несомненный прогресс в исследованиях эпилепсии, почти 30% пациентов по-прежнему испытывают неконтролируемые изнурительные припадки. Во многом это объясняется тем, что согласно международной классификации эпилепсий, эпилептических синдромов и схожих заболеваний, эпилепсия не рассматривается как единое заболевание с различными приступами, а подразделяется на отдельные формы (эпилептические синдромы, всего порядка 40 форм), имеющие свои электро-клинические особенности и различающиеся по прогнозу и подходам к терапии [145].

Даже если при лечении желаемый терапевтический эффект достигается, большинство доступных противоэпилептических препаратов (ПЭП) часто имеют негативные побочные эффекты, такие как тревога и депрессия, ухудшение памяти, снижение внимания или сонливость из-за их неспецифического влияния на ЦНС [146, 147].

На текущий момент согласно данным FDA в клинической практике используется порядка 30 ПЭП различных классов и поколений (рис. 25). Это препараты бензодиазепинового ряда (диазепам и клоназепам – 1-го поколения; клобазам – 3-его поколения); триароматическое производное пиридинона перампанел (3-его поколения); производные дибензоазепинов (карбамазепин – 1-го поколения; окскарбазепин – 2-го поколения; экликарбазепин ацетат – 3-его поколения); производное нипекотовой кислоты тиагабин (2-го поколения); производные циклических амидов, диамидов и диимидов (препараты 1-го поколения: фенобарбитал, примидон, фенитоин, месуксимид, этосуксимид); производные триазагетероциклов (ламотриджин – 2-го поколения; руфинамид – 3-его поколения); нециклические амиды (фелбамат – 2-го поколения;

лакосамид – 3-его поколения); производные ГАМК (габапентин и прегабалин – 2-го поколения; вигабатрин – 3-его поколения); производные 2-пирролидонов (леветирацетам – 2-го поколения; бриввpацетам – 3-его поколения); сульфамидные соединения (топирамат и зонисамид – 2-го поколения); а также каннабидиол (3-его поколения) и вальпроевая кислота (1-го поколения). Среди перечисленных соединений препараты 3-его поколения, такие как бриварацетам, лакосамид или перампанел, были введены в фармакотерапию эпилепсии в последние годы. Однако, несмотря на их эффективность при некоторых типах эпилепсии, а также лучшую переносимость пациентами по сравнению с более старыми ПЭП, они не решили проблему фармакорезистентной эпилепсии [148].

Указанные обстоятельства во многом определяются тем, что эпилепсия остается одним из наименее изученных неврологических заболеваний со сложным и многофакторным патогенезом.

Среди основных биологических мишеней противосудорожных средств выделяют следующие основные группы (см. подписи на рис. 25):

1. Потенциал-зависимые ионные каналы (прежде всего, натриевые и кальциевые, а также калиевые).
2. Неспецифичные катионные каналы, регулирующие свойства мембран.
3. Лиганд-активируемые ионные каналы (прежде всего, ГАМК-рецепторы и глутаматные рецепторы).
4. Рецепторы, переносчики и ферменты метаболизма нейромедиаторов.

Действуя на одну или несколько этих биомишеней ПЭП либо вызывают торможение активирующих нейронов, либо активацию ингибирующих нервных клеток, что обеспечивает снижение возбудимости нейронов эпилептогенного очага [149].

В последние годы осуществляется поиск других биологических мишеней для конструирования новых потенциальных ПЭП, среди которых, например, некоторые киназы (киназа гликогенсинтазы-3 бета (GSK3β); c-Jun N-концевые киназы (JNK)); рецептор эстрогена 1, связанный с G-белком (GPER1); гентингтин-ассоциированный белок 1 (HAP1); холестерин 24-гидроксилаза (CYP46A1); нейротрофический фактор головного мозга / тирозин-киназа B (BDNF/TrkB); σ1-рецептор; серотониновые рецепторы [150, 151].

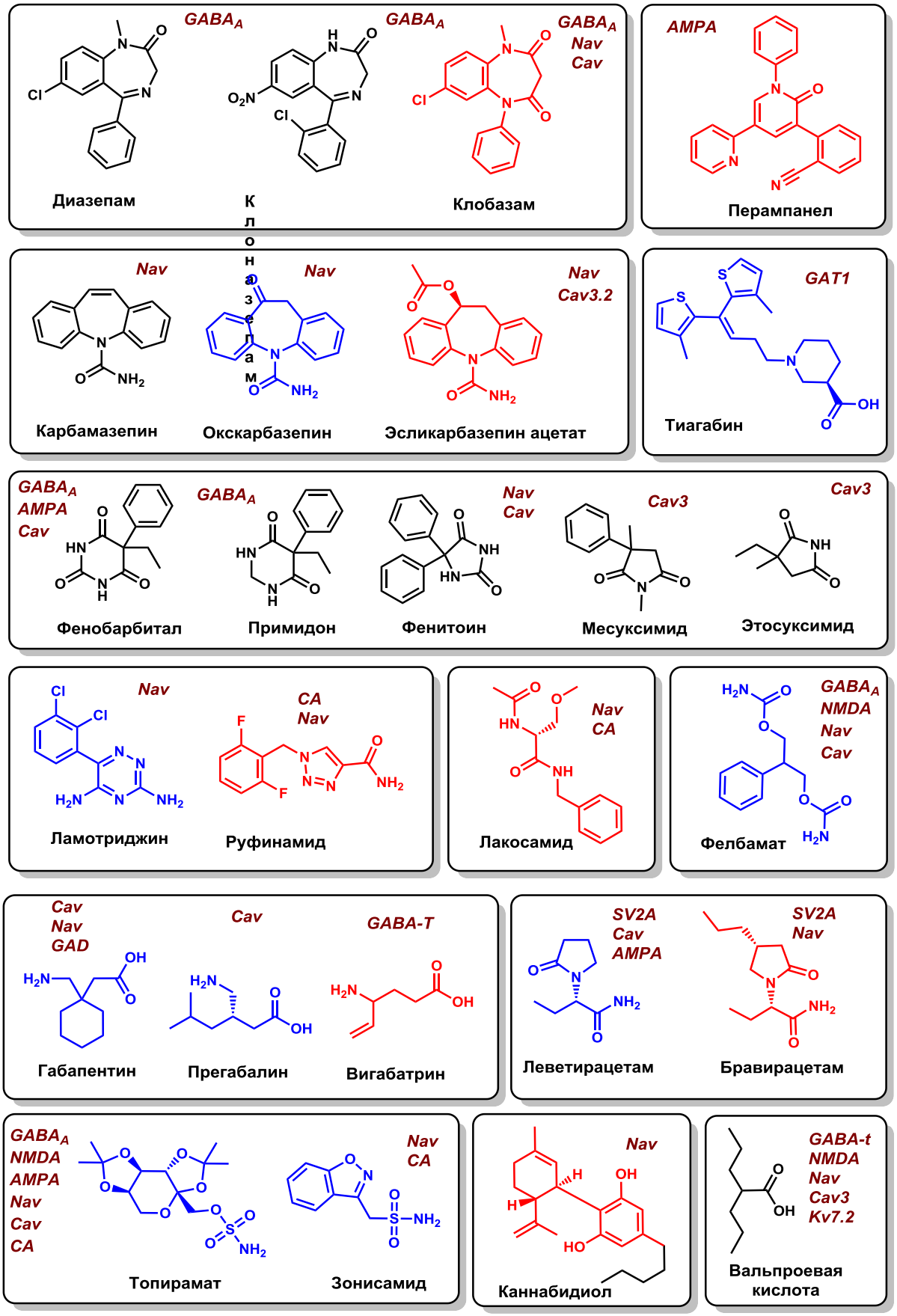


Рисунок 25. Основные применяемые в настоящее время ПЭП, одобренные FDA. Черным обозначены ПЭП 1-го поколения, синим – 2-го, красным – 3-его. Рядом с препаратами указаны их предполагаемые биомишени.

В то время, как многие, в том числе применяемые на сегодняшний день ПЭП, были созданы в процессе слепого или случайного *in vivo* скрининга, в настоящее время используются следующие основные стратегии дизайна новых потенциальных ПЭП [10, 151, 152]:

1. Модификации известных клинически-эффективных ПЭП с целью увеличения их эффективности и фармакокинетических характеристик и снижения побочных эффектов.
2. Фармакофорное моделирование с использованием элементов активных молекул; создание гибридных молекул. Этот подход во многом является развитием первой стратегии.
3. Мишень-ориентированный дизайн, основанный на данных о структурах предполагаемых биологических мишеней конструируемых веществ.

Одним из наиболее привлекательных и перспективных представляется подход по конструированию новых соединений с противоэпилептической активностью с использованием фармакофорных моделей, включая сочетание («гибридизацию») фармакофоров ПЭП различных подклассов. Это объясняется, во-первых, тем общепризнанным фактом, что подавляющее большинство ПЭП являются мультитаргетными, и эта мультитаргетность является важным условием эффективности таких препаратов вследствие многофакторности самой эпилепсии [153]. Таким образом, сочетание фармакофорных групп различных классов ПЭП может позволить создать эффективные мультитаргетные ПЭП. Также фармакофорный подход к конструированию ПЭП является одним из самых распространенных в мировых исследованиях. Вещества, созданные таким методом далее скринируются в классических моделях эпилепсии, после чего на основании данных *in vivo* отбираются лидерные молекулы для дальнейшего развития. Во многих случаях осуществляется также анализ возможных механизмов действия таких веществ либо *in vitro*, либо *in silico* [10, 154, 155].

Целью настоящего раздела явился анализ основных существующих подходов к созданию фармакофорных моделей противосудорожных соединений и их использования для создания новых веществ с данным видом активности.

1.3.2. Фармакофорный подход при конструировании соединений с противосудорожной активностью

Одним из первых метод фармакофорного моделирования при конструировании новых потенциальных противосудорожных средств был применен Dimmock с соавторами. В процессе создания ряда (арилокси)арилсемикарбазонов **1.2.1** в 1996 году. В ходе

анализа литературных данных и собственных исследований авторы выявили следующую фармакофорную модель активных веществ (рис. 26): молекулы имели семикарбазонный фрагмент, который образует «область водородных связей» (HBA, hydrogen bonding area), а также ароматические составляющие, которые были отнесены к связанной с HBA «проксимальной ароматической группе» (PAR, proximal aryl ring) и более отдаленной «дистальной ароматической группе» (DAR, distal aryl ring).

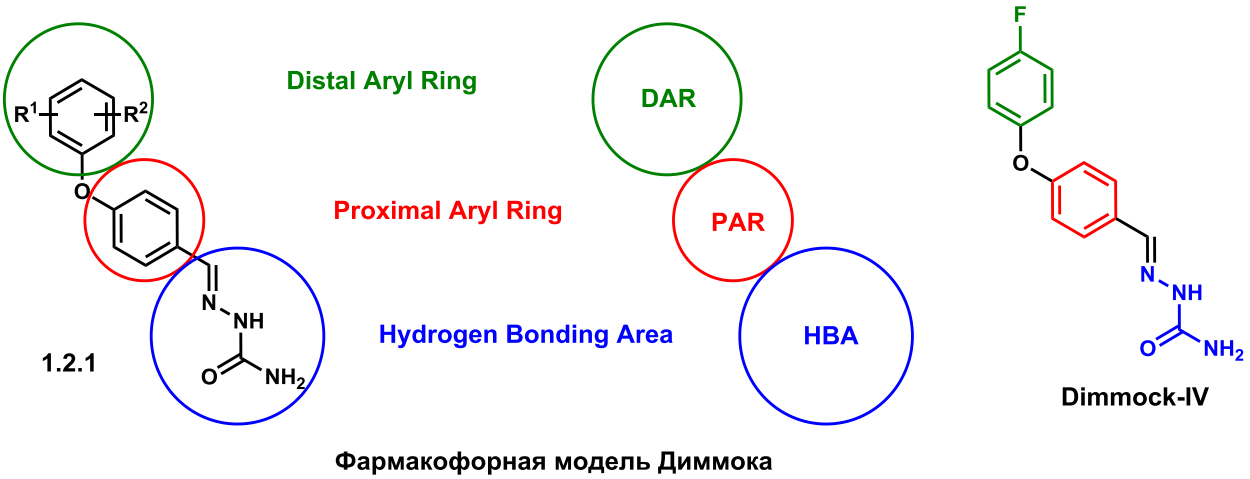


Рисунок 26. Фармакофорная модель Диммока

В рамках предложенной модели авторами было выявлено соединение-лидер Dimmock-IV с *n*-фторфенильной группой в качестве фрагмента DAR. Это вещество было эффективно на различных моделях эпилепсии у разных животных. Анализ возможных механизмов действия Dimmock-IV показал, что оно не влияло на ГАМК-эргические системы, но оказывало влияние на кальциевые и натриевые каналы [156, 157].

Pandeya с соавторами в 2002-2012 гг. с целью создания более универсальной фармакофорной модели для описания различных противосудорожных средств предложили другую модель (модель Пандея), представленную на рис. 27 [158, 159]. В этой модели имеется четыре фармакофорных элемента: (1) сайт гидрофобного взаимодействия (HBS/HPB = Hydrophobic Site/domain); (2) домен донора водородной связи (HBD = Hydrogen Bonding Domain); (3) донор электронной пары (EPD = Electrons Pare Donor) и (4) «фармакокинетический сайт», который с точки зрения авторов отвечает за фармакокинетические характеристики молекул. Этот сайт может быть как гидрофобным, так и гидрофильным (HHS/PKS = Hydrophobic-Hydrophilic site).

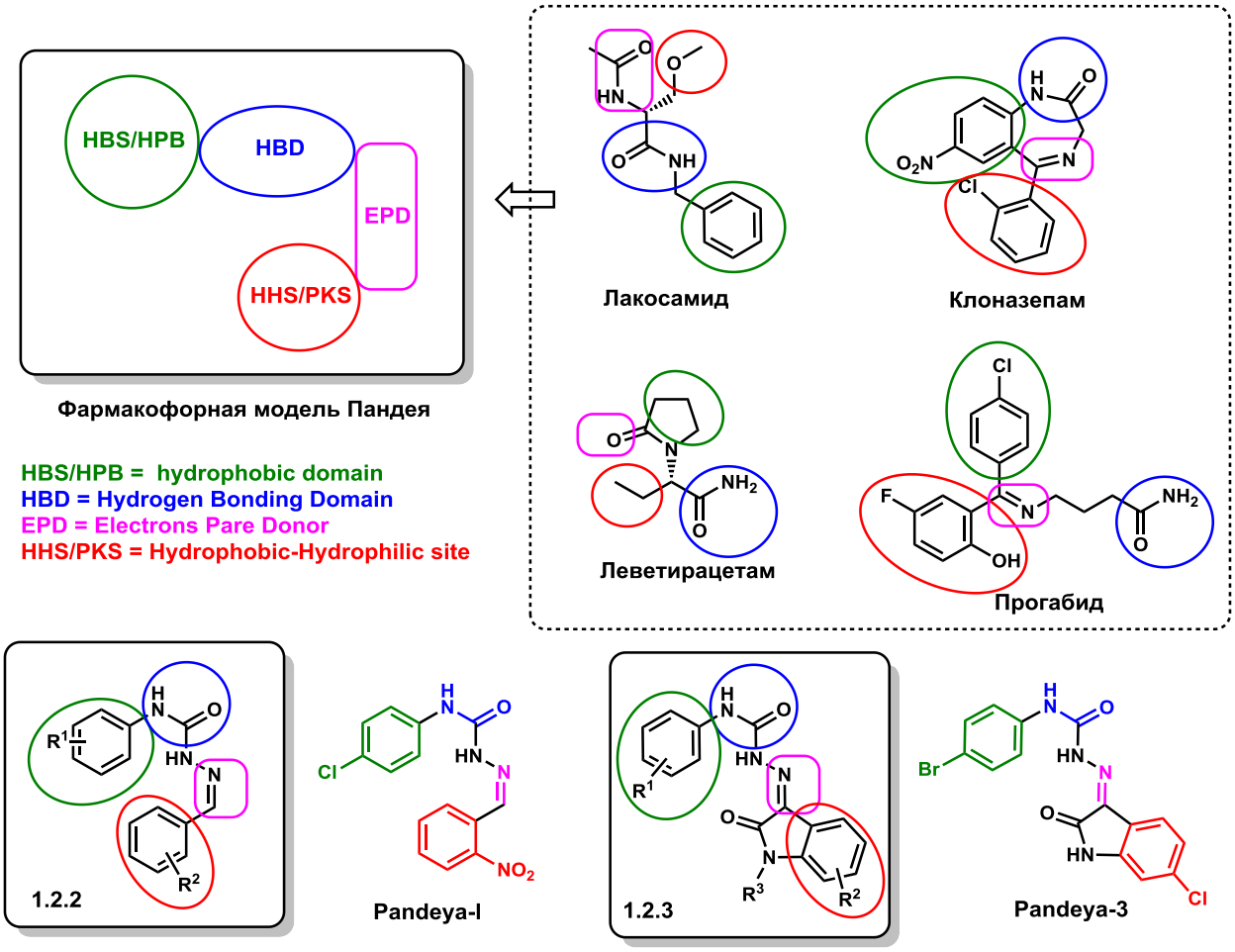


Рисунок 27. Фармакофорная модель Пандея

Авторы отмечают, что предложенной фармакофорной модели отвечают многие соединения с противосудорожной активностью самых различных классов. В качестве примеров они приводят такие молекулы как лакосамид, клоназепам, леветирацетам, прогабид и ряд других. Нельзя не отметить, что структурные фрагменты, соответствующие предполагаемым фармакофорным элементам, в этих молекулах очень сильно отличаются, также они имеются весьма различное относительное пространственное расположение. Тем не менее, с использованием фармакофорной модели Пандея авторами было создано несколько групп соединений с выраженной противосудорожной активностью, например, группа арилсемикарбазонов **1.2.2** и изатинсемикарбазонов **1.2.3**. В этих рядах соединения Pandeya-l и Pandeya-3 были отобраны в качестве лидерных с наилучшим спектром антиэпилептических свойств.

Работы Диммока и, в большей степени, Пандея, а также их фармакофорные модели послужили базой для дизайна новых потенциальных противосудорожных средств большим количеством авторов. При этом часто в качестве некоторых фармакофоров использовались фрагменты известных активных препаратов. Некоторые примеры работ такого типа приведены ниже.

Azam с соавторами в 2010 г сконструировали группу **1.2.4**, включающую все необходимые фармакофоры Пандея, используя при этом в качестве гидрофобной группы нафталиновый фармакофор, присутствующий в противосудорожном препарате нафимидон (рис. 28). По результатам скрининга в тестах МЭШ и PTZ было отобрано активное соединение Azam-8a, обладающее дополнительно антиоксидантными свойствами [160].

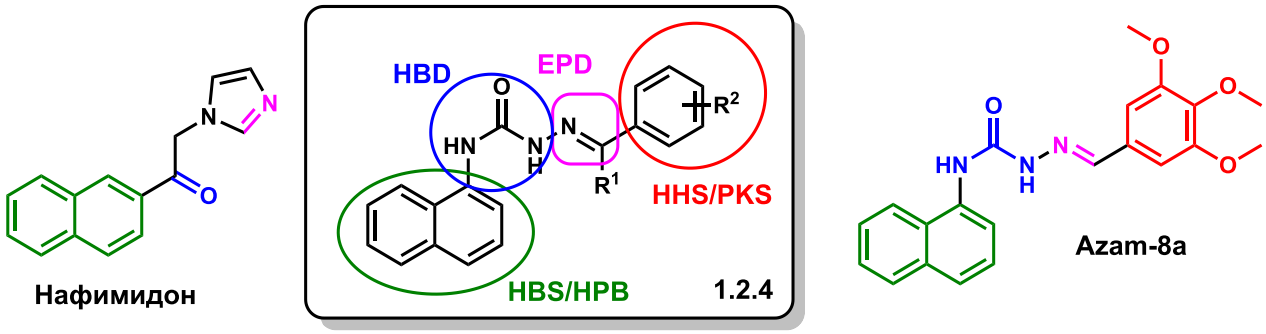


Рисунок 28. Дизайн Azam на основании фармакофорной модели Пандея

Malik с соавторами в 2013 г предприняли попытку комбинации в одной молекуле ключевых фармакофорных единиц известных соединений с противосудорожной активностью: производных хиназолин-4(3*H*)-онов, таких как метаквалон или меклоквалон, и бензотиазольного производного рилузола [161]. Целью авторов было достичь синергетического эффекта от комбинации хиназолин-4(3*H*)-онового и бензотиазольного фармакофоров в единых гибридных молекулах (рис. 29). При этом в качестве линкера, связывающего эти фармакофоры были использованы фрагмент мочевины, выступающий в роли донора водородных связей, и CS-фрагмент, являющийся донором электронной пары. Таким образом, как отмечается авторами, гибридные молекулы **1.2.5** соответствуют также и фармакофорной модели Пандея.

Скрининг противосудорожной активности молекул группы **1.2.5** подтвердил эффективность предложенного дизайна, так как ряд молекул обладали антиэпилептическими свойствами в тестах МЭШ и PTZ. Наиболее активной молекулой оказалась SA-24 со сходной с рилузолом трифторметоксигруппой.

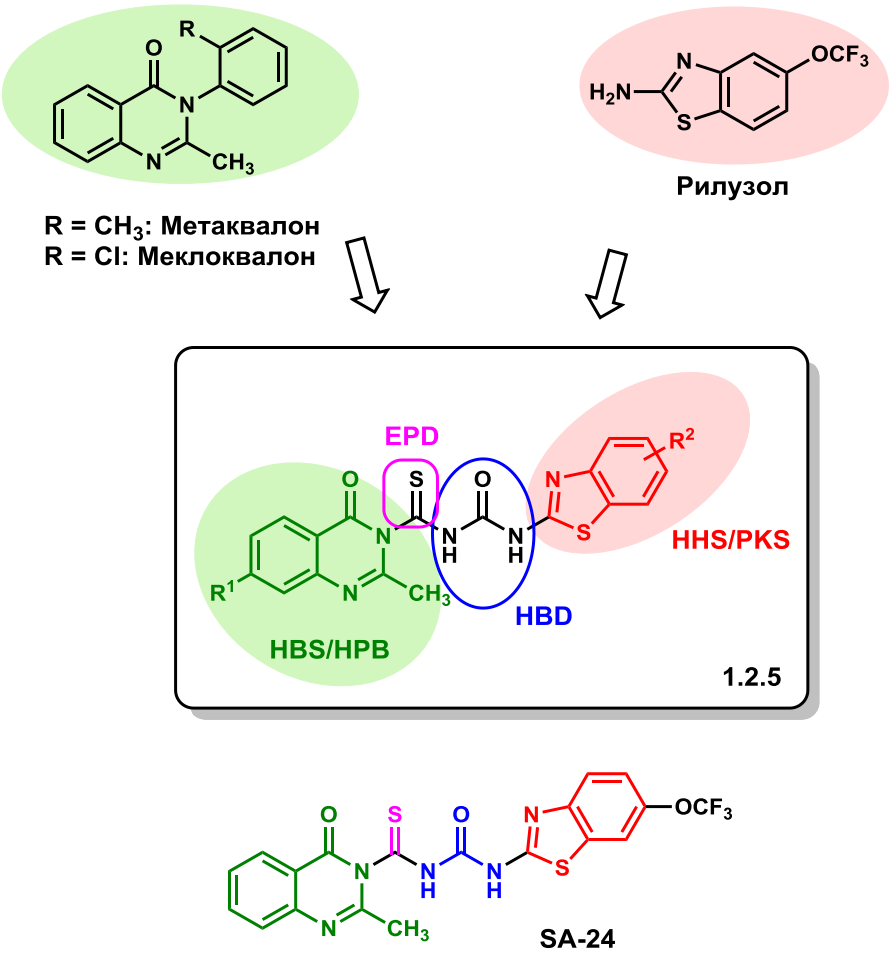


Рисунок 29. Фармакофорный дизайн Malik соединений с противосудорожной активностью

Бензотиазольная система рилузола использовалась также в фармакофорном моделировании Siddiqui с соавторами, которые в соответствии с моделью Пандея создали группу производных изотиомочевины **1.2.6** [162] (рис. 30). Помимо активности в тесте МЭШ и PTZ соединения этой группы согласно докинговым исследованиям могут являться лигандами ГАМК$_A$-рецептора и блокаторами ионных каналов. Соединением-лидером оказалось Siddique-4b с пара-толлильным ароматическим фармакофором.

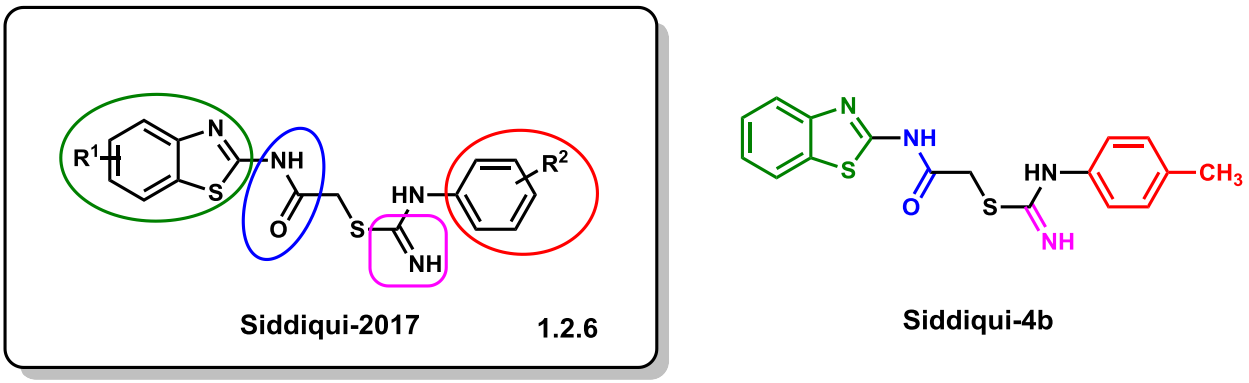


Рисунок 30. Дизайн Siddiqui на основании фармакофорной модели Пандея

Abuelhassan с соавторами (2017), основываясь на данных о противосудорожной активности ряда производных триазолов, сконструировали на базе этого гетероцикла группу **1.2.7** со всеми необходимыми фармакофорными элементами модели Пандея [163] (рис. 31). Интересно отметить, то в этом случае оба гидрофобных фармакофора и донор водородной связи являлись заместителями триазольного цикла, один из атомов азота которого являлся донором электронной пары. Вещества новой группы были активными в серии животных моделей эпилепсии с лидером Abuelhassan-4f.

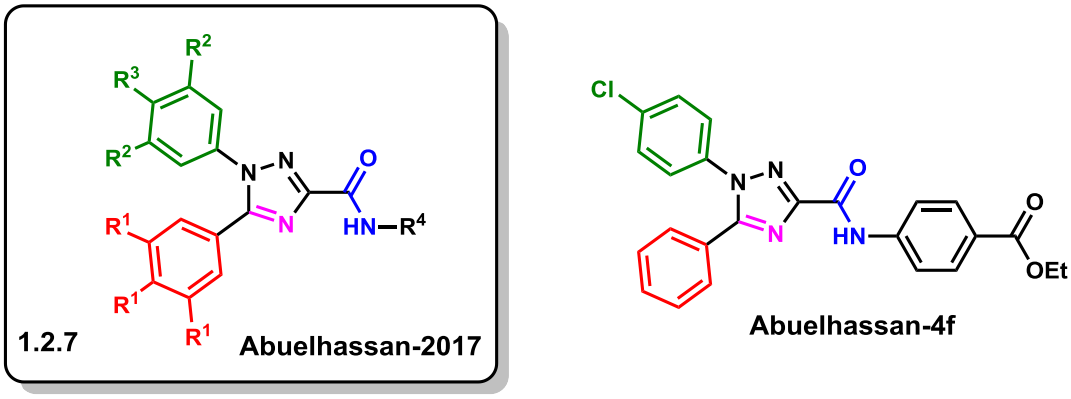


Рисунок 31. Дизайн Abuelhassan на основании фармакофорной модели Пандея

Kothayer с соавторами в 2019 г использовали гетероциклическую систему метаквалона, обладающего противосудорожным действием в новой группе **1.2.8**, соответствующей модели Пандея (рис. 32). Лидер ряда Kothayer-4n с *n*-нитробензойной группой обладал лучшей активностью в моделях МЭШ и PTZ [164].

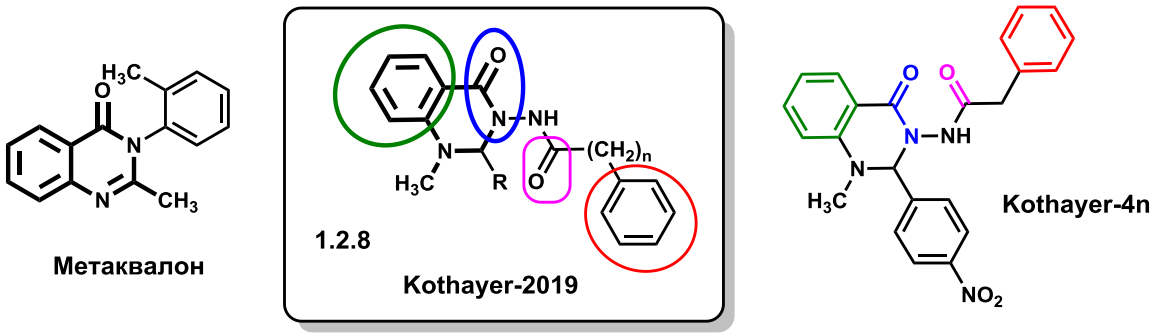


Рисунок 32. Дизайн Kothayer на основании фармакофорной модели Пандея

Nath с соавторами (2021 г), используя структурные фрагменты веществ с противосудорожной активностью и руководствуясь моделью Пандея, получили группу **1.2.9** (рис. 33). *In vivo* скрининг подтвердил наличие активности у веществ в моделях МЭШ и PTZ, а in silico исследования позволили предположить, что молекулы могут реализовывать свои эффекты через $ГАМК_A$-рецептор и Na^+-каналы [165]. Соединением-лидером было Nath-4a.

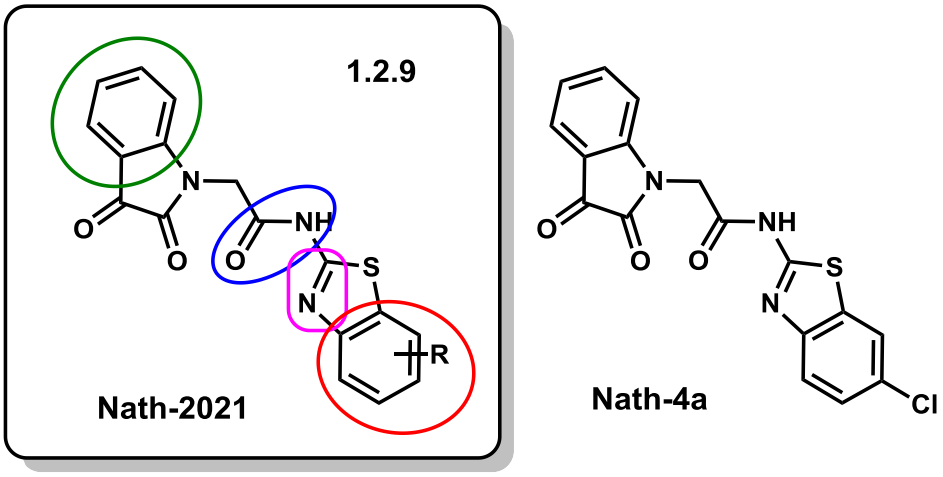


Рисунок 33. Дизайн Nath на основании фармакофорной модели Пандея

Shafe с соавторами (2019) использовали для молекулярного моделирования бензодиазепиновую систему [166]. Основываясь на данных о противосудорожной активности триазольных производных бензодиазепинов **1.2.10**, авторы дополнили их структуру фрагментом активного аналога лакосамида, взяв из него диамидную систему и фенильный заместитель. В полученном гибриде **1.2.11** имелись все необходимые элементы модели Пандея (рис. 34). Результат такого дизайна позволил выявить ряд активных молекул, среди которых Shafie-6h обладал лучшими свойствами в тестах МЭШ и PTZ. Ингибиторный анализ подтвердил вовлеченность $ГАМК_A$-рецептора в механизм противосудорожного действия этого соединения.

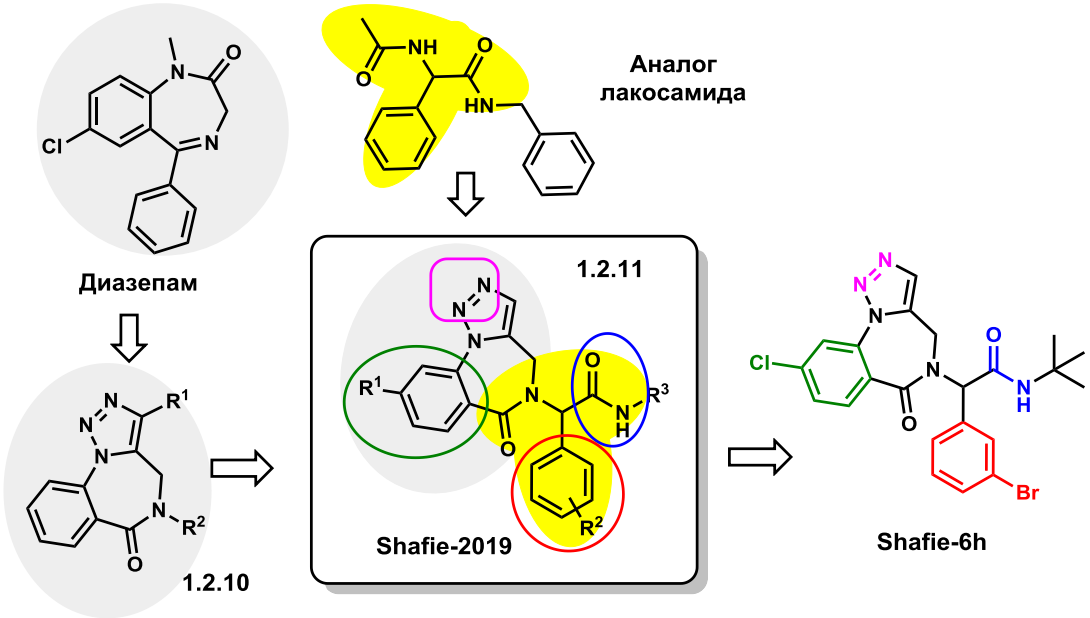


Рисунок 34. Фармакофорный дизайн производных бензодиазепинов Shafe.

Работы, посвященные дизайну новых потенциальных противосудорожных средств на базе фармакофорных моделей Пандея и Диммока очень хорошо суммированы и

проанализированы в обзоре Jain с соавторами (2017) [167] и в обзоре Kale с соавторами (2023) [10].

В обзорах отмечается то, что в подавляющем большинстве сконструированных соединений имеются обозначенные ранее фармакофорные элементы (обозначения представлены на рис. 35-37): гидрофобный домен (A); донор электронной пары (D); «домен водородных связей» (HBD), как правило состоящий из донора водородной связи (HD) и акцептора водородной связи (HA); а также часто – дистальный гидрофобный домен (R или C). При этом следует отметить, что авторы акцентируют внимание лишь на наличии указанных фармакофорных элементов в соединениях, не анализируя их пространственного расположения или каких-либо других характеристик.

Между тем рядом авторов предпринимались попытки выявить более точные фармакофорные модели с определением расстояний между их ключевыми элементами.

Unverferth с соавторами в 1998 г произвели наложение молекул пяти известных противосудорожных препаратов (карбамазепин, фенитоин, ламотриджин, зонисамид и руфинамид) с целью генерации обобщенной фармакофорной модели с более точными значениями расстояний между элементами этой модели [168].

На основе расчетов с использованием молекулярной динамики была выявлена следующая фармакофорная модель (рис 35). Эта модель включает донор электронов D, расположенный на расстоянии 3,2-5,1 Å от арильного кольца или другого гидрофобного фрагмента R и на расстоянии 3,9-5,5 Å от группы HAD, сочетающей наличие акцептора и донора водородной связи (чаще всего это амидная группа). Расстояние между R и HAD имеет более широкий диапазон 4,2–8,5 Å. Гидрофобная единица R не ориентирована в той же плоскости, что и другие элементы модели. Ароматическое кольцо обычно повернуто на 10-40° относительно плоскости R-D-HAD. Между донором и акцептором водородной связи расстояние составляет 2.4-2.6 Å.

На базе модели Унферферта была предложена группа производных пиррола **1.2.12**, сочетающая все необходимые фармакофорные элементы. В тесте МЭШ соединения этой группы показали наличие выраженной противосудорожной активности. Наиболее активным было вещество Unverferth-3 с *пара*-бромфенильной группой и морфолиновым амино-компонентом. Обнаружена способность этого вещества блокировать натриевые каналы.

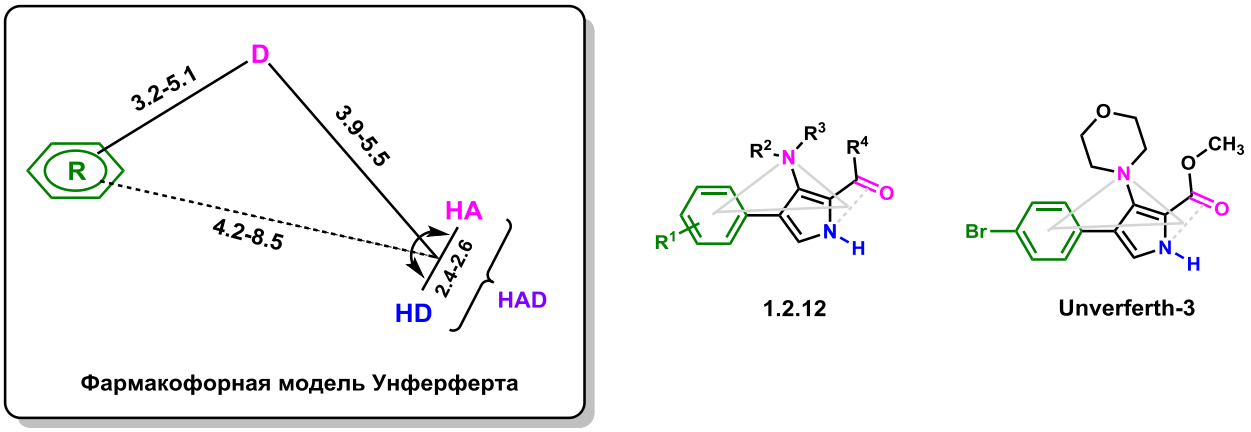


Рисунок 35. Фармакофорная модель Унферферта и предложенные на ее основе соединения с противосудорожной активностью

Модель Унферферта использовалась рядом других исследователей при конструировании потенциальных противосудорожных средств. Так, например, Deng с соавторами в 2014 г предложил группу фенилтиазоло[3,2-*b*][1,2,4]триазолов **1.2.13**, содержащих необходимые элементы R, D и HAD. Многие вещества группы продемонстрировали ожидаемую активность, в частности, соединение-лидер Deng-5b было активным в тестах МЭШ и PTZ, превосходя эффекты карбамазепина (рис. 36) [169].

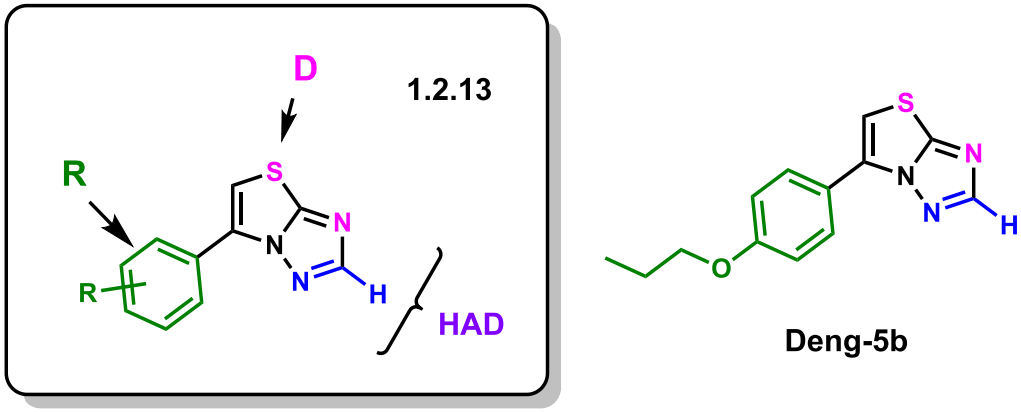


Рисунок 36. Дизайн Deng на основании фармакофорной модели Унферферта

Tripathi с соавторами в 2012 г предприняли попытку выявления сходной, но более точной 3D-фармакофорной модели соединений с противосудорожной активностью. Для этого они отобрали 10 хорошо известных и структурно различных соединений с противосудорожной активностью — альбутоин, карбамазепин, габапентин, ламотриджин, мефобарбитал, фенитоин, прогабид, ралитолин, ремацемид и зонисамид [170]. Расчет модели проводился с использованием программ Argus Lab 4.0 и ACD/3D. Важнейшими структурными компонентами, которые были включены в четырехточечную модель фармакофора, были: арильное кольцо или липофильная группа (A), электроно-донорная группа (D), акцептор водородной связи (HA) и донор водородной связи (HD). Был

получен средний диапазон расстояний между указанными фармакофорными элементами (рис. 37).

На основании выявленной фармакофорной модели авторами исследования была предложена группа *N*-(арил)-2-[бензилиден]гидразинкарботиоамидов **1.2.14**. Скрининг биологической активности на животных подтвердил наличие противосудорожных свойств соединений этой группы, причем наиболее активным из них было соединение с пара-фтор и пара-хлор-заместителями PC-31. Интересно отметить, что авторами также было проведено мультидокинговое исследование, показавшее наличие высокой теоретической аффинности новых веществ в отношении сайтов $ГАМК_A$-рецептора, глутаматного рецептора, Na/H-обменника, на основании чего была выдвинута гипотеза об их мультитаргетности.

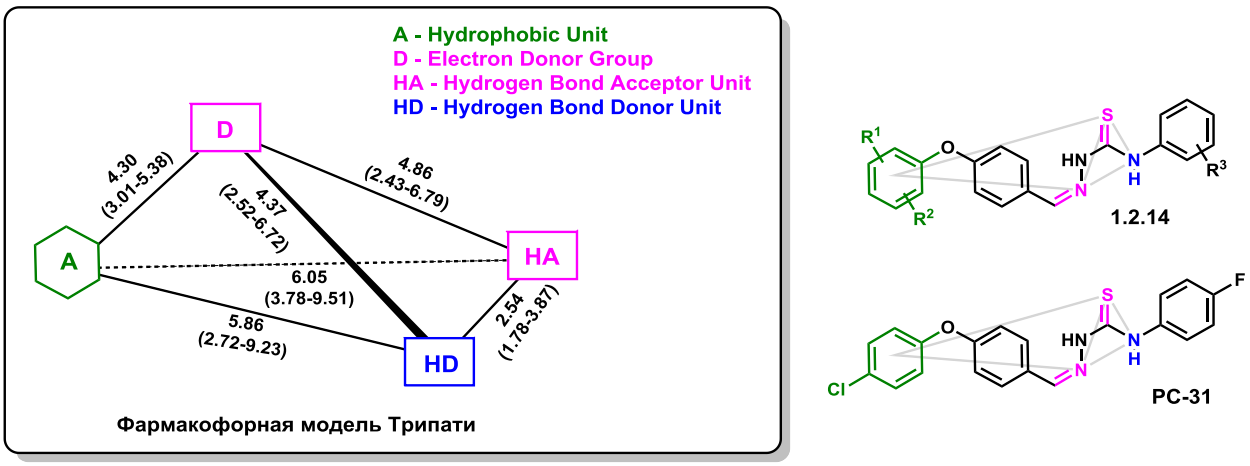


Рисунок 37. Фармакофорная модель Трипати и предложенные на ее основе соединения с противосудорожной активностью

В литературе применялись самые разнообразные вариации комбинирования фармакофорных групп или даже основных частей активных молекул с целью создания новых «гибридных» соединений с потенциальной противосудорожной активностью. Ниже представлены некоторые примеры такого подхода к дизайну.

В 2019 г Bai с соавторами, используя «комбинацию стратегий молекулярной химии традиционной китайской медицины», на основании данных о противосудорожной активности α-асаронола и 3,4,5-триметоксикоричной кислоты, выделенных из растений *Acori Tatarinowii* и *Polygala tenuifolia*, соответственно, объединили их в группе гибридных молекул в качестве двух фармакофорных элементов (рис. 38). В полученных гибридах варьировали заместители в коричном фармакофоре, связывающий атом X и насыщенность асаронольного фармакофора [171].

Данный подход позволил получить ряд активных молекул **1.2.15** с широким спектром противосудорожной активности и низкой нейротоксичностью. В частности,

соединение Bai-70 было одним из лучших в серии противосудорожных тестов у животных. Среди биологических мишеней этой молекулы были идентифицированы как минимум ГАМК$_A$-рецептор и лактат-дегидрогеназа.

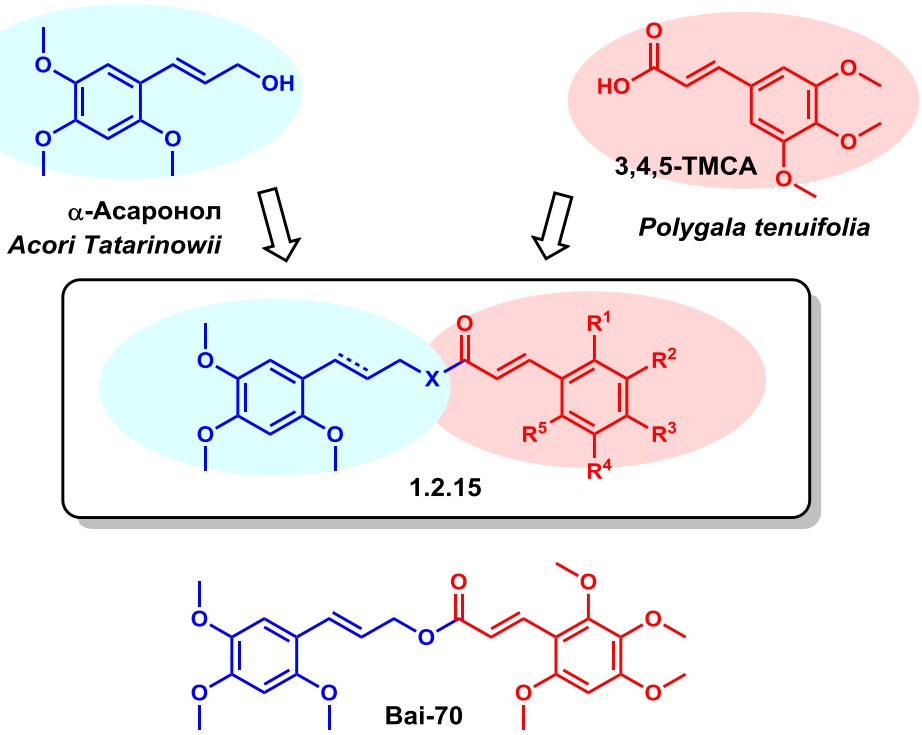


Рисунок 38. Фармакофорный дизайн гибридных молекул с противосудорожной активностью Bai.

Dehestani с соавторами в 2018 представили работу, в которой была предложена комбинация фармакофорных элементов двух подгрупп соединений с противосудорожной активностью: арилалкилтриазолов (таких как лореклезол) и гидразид-гидразонов **1.2.16** [172]. Суть комбинации заключалась во введении в структуры гидразонов триазольного фармакофора, играющего важную роль в активности соединений типа лореклезол (рис. 39). При этом оба ароматических фармакофора и гидразоновый линкер соединений группы **1.2.16** были сохранены.

Успешность такого подхода была подтверждена наличием серии активных молекул в новой группе **1.2.17**, выявленных в тестах МЭШ и PTZ. Лидерное соединение Dehestani-3h содержало те же структурные единицы, что и лореклезол. Следует указать, что авторы отмечают также соответствие новых молекул фармакофорным моделям типа Унферферта или Трипати (наличие гидрофобного фармакофора, донора пары электронов и домена водородных связей).

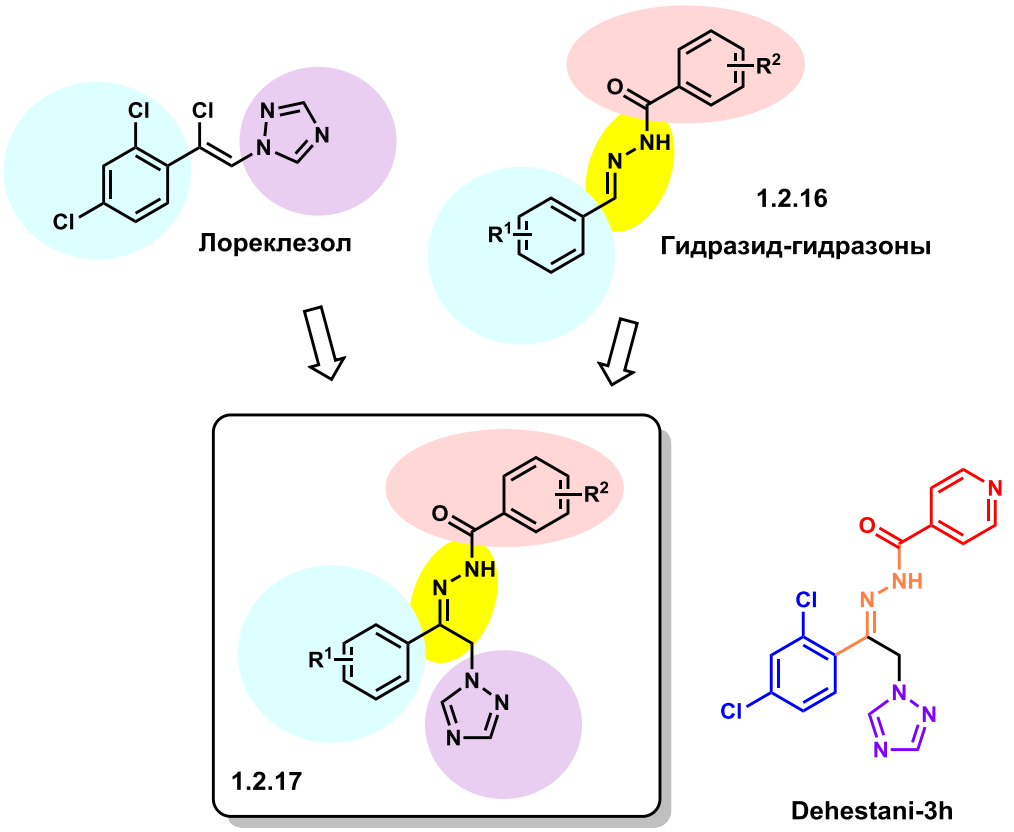


Рисунок 39. Фармакофорный дизайн соединений с противосудорожной активностью Dehestani.

Sahu с соавторами сконструировали группу гибридных 5,6-дигидропиримидин-1(2*H*)-карботиоамидов **1.2.18**, используя фармакофорные элементы противосудорожных препаратов альбутиона, фенобарбитала, ремацемида и карбамазепина [173] (рис. 40). От первых двух препаратов был взят циклический мочевино(тиомочевино)-содержащий фрагмент и боковой липофильный радикал. От ремацемида и карбамазепина был взят второй фрагмент мочевины, который в новой группе был заменен на тиомочевину, а также два ароматических фармакофора. Авторами также отмечается, что новая группа соответствует фармакофорным моделям Пандея и Унферферта. *In vivo* скрининг позволил выявить молекулы, обладающие активностью как в тесте МЭШ, так и в тесте PTZ. Соединение Sahu-4g с *napa*-гидрокси и *napa*-метильными группами в ароматических группах обладало наибольшей эффективностью. Авторы предположили, что механизм действия соединений новой группы, обусловлен, в том числе, их ингибированием GABA-AT, что подтвердилось как исследованиями *in silico*, так и *in vitro*.

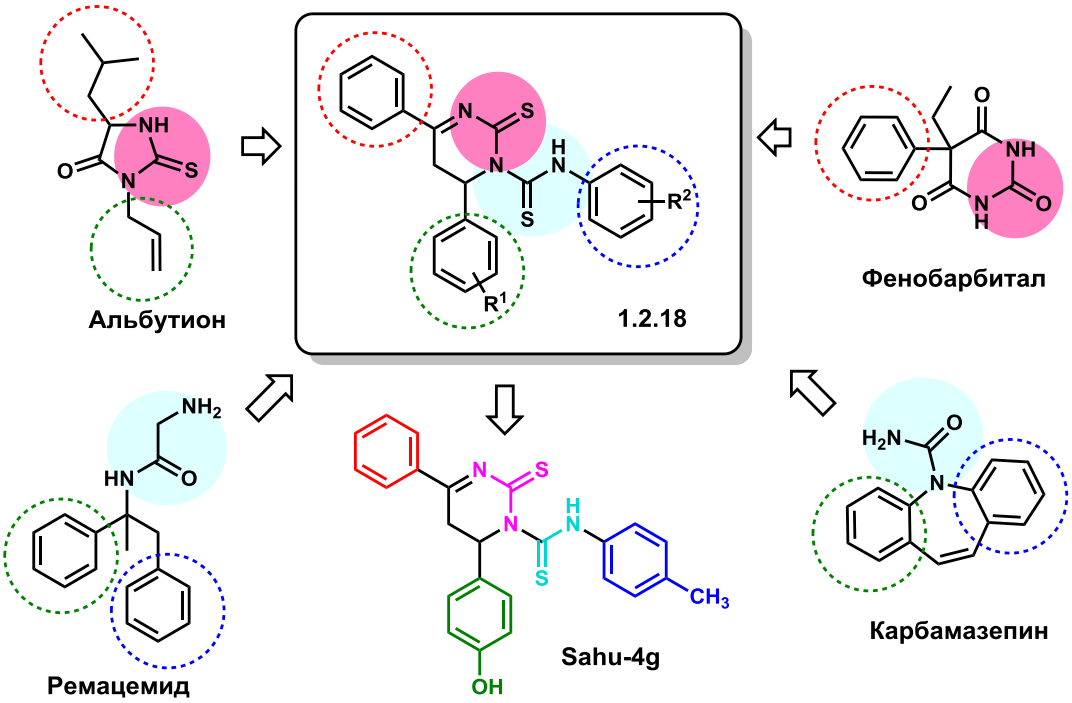


Рисунок 40. Фармакофорный дизайн соединений с противосудорожной активностью Sahu.

Marzouk с соавторами в 2020 г представили работу, в которой была предпринята попытка сочетать фармакофорные компоненты таких противосудорожных средств как фенитоин и вальпроевой кислоты [174] (рис. 41).

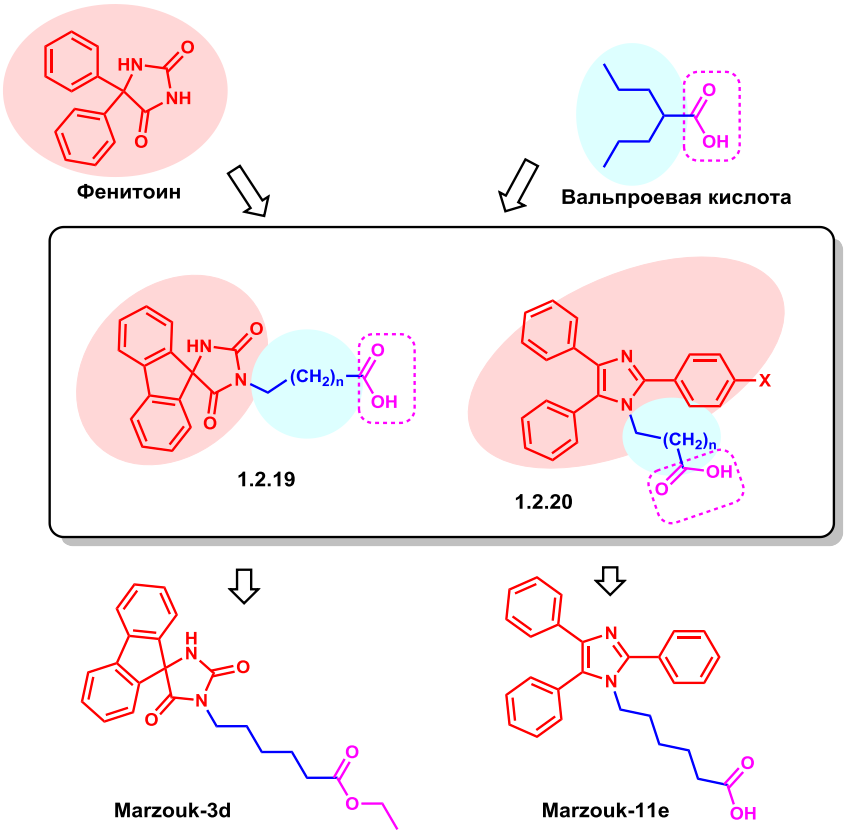


Рисунок 41. Фармакофорный дизайн соединений с противосудорожной активностью Marzouk.

При этом фенитоиновая структура была сымитирована имидазолиндионовым или имидазольным циклом со сходной биароматической системой, а аналогом вальпроевой кислоты явились сходные по липофильности боковые цепи с карбоксильной группой на конце. Представленный дизайн позволил получить серию активных молекул **1.2.19** и **1.2.20**, из которых Marzouk-3d и Marzouk-11e превосходили вальпроевую кислоту по активности в PTZ-тесте.

Исследователями из Ягеллонского университета (Польша) в течение многих лет осуществляется программа по поиску эффективных противосудорожных средств с предположительным мультитаргетным механизмом действия. При этом ими была применена стратегия «молекулярной гибридизации» по комбинированию в одной молекуле фармакофорных компонентов нескольких известных антиэпилептических препаратов: этосуксимида, леветирацетама и лакосамида. Наложение этих структур с учетом сходных участков привело к структурам **1.2.21**, в ряду которых были выявлены активные соединения DK-1 и AS-1 (тесты МЭШ, PTZ) (рис. 42) [175, 176].

Дальнейшее добавление в структуры **1.2.21** дополнительного ароматического ядра на основании данных о структурах биарил-содержащих ПЭП, таких как фенитоин или перампанел, привело к группе молекул **1.2.22** с большей липофильностью, среди которых лидером по противосудорожной активности оказалось соединение Abram-30 [177].

Введение в гибриды, основанные на структурах этосуксимида и леветирацетама фенилпиперазинового фрагмента привело к группе **1.2.23** с лидером КА-11 [178, 179].

Добавление ароматического фармакофора в соединения группы **1.2.23**, что, по мнению авторов, приводило к введению в молекулы фармакофорных элементов антагониста TRVP1-каналов ВСТС, давало группу **1.2.24**, в которой лидером также было 3-трифторметильное производное КА-104 [180, 181].

Авторы представленной программы по конструированию новых потенциальных ПЭП отмечают, что предложенный ими подход по «гибридизации» фармакофоров отдельных активных препаратов позволил получить вещества с более выраженным и/или более широким спектром противосудорожного действия по сравнению с каждым из них.

Таким образом, проведенный анализ свидетельствует о распространенности и эффективности использования фармакофорного моделирования при конструировании новых соединений с противосудорожной активностью.

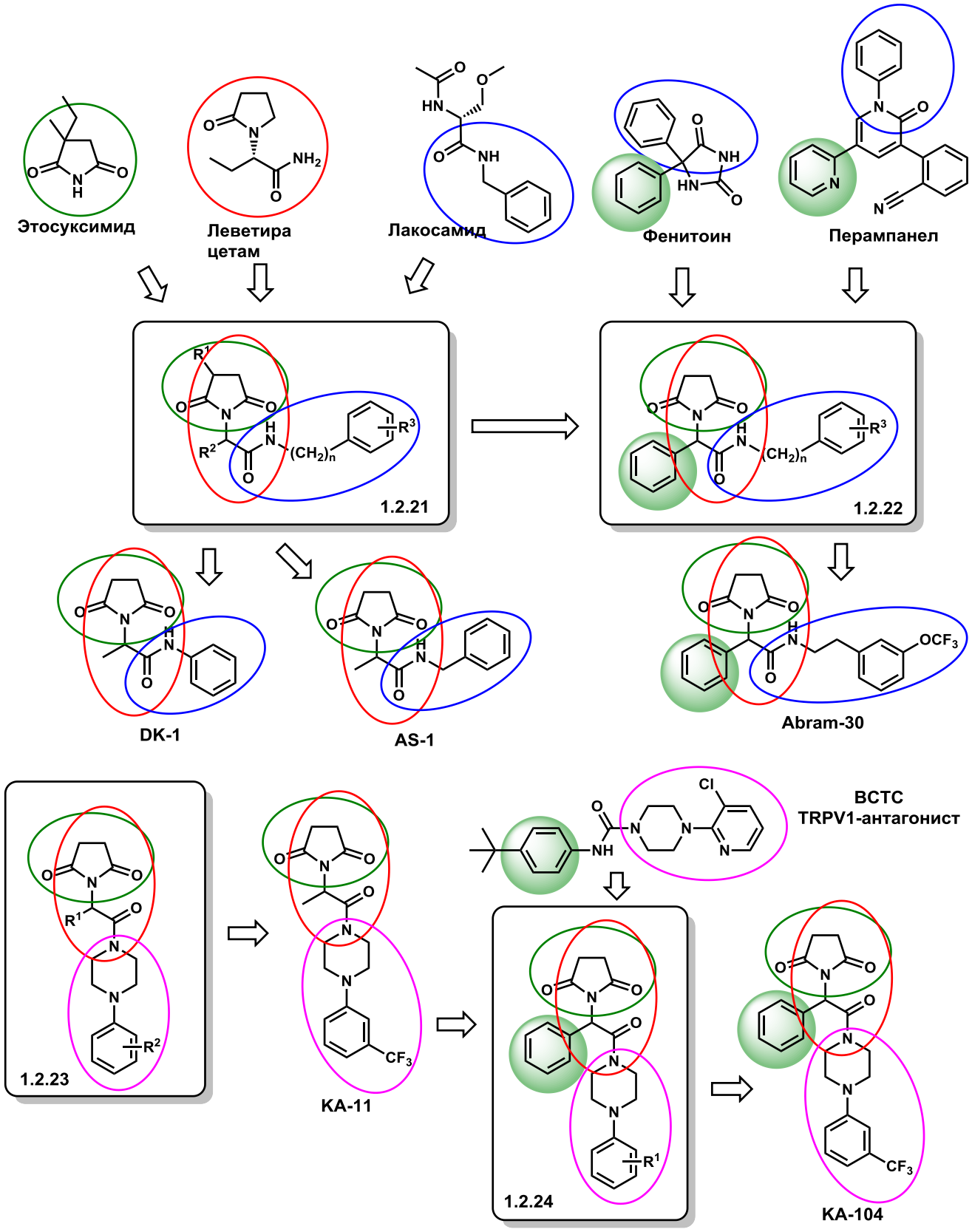


Рисунок 42. Стратегия «молекулярной гибридизации» для создания соединений с противосудорожной активностью

1.4. Мультитаргетные кардиопротекторы[1]

Одна из современных концепций разработки эффективных и безопасных кардиопротекторных средств заключается в том, что такие препараты должны иметь мультитаргетный механизм действия [182–187]. Эта концепция находится в прямом соответствии с «мультитаргетным подходом к кардиопротекции», развиваемым в современном сообществе кардиологов [12, 182, 188]. Необходимость учета значительного числа биомишеней при конструировании потенциальных кардиопротекторных средств обусловлена многофакторностью сердечно-сосудистых заболеваний и вовлечением в их патогенез большого количества систем и механизмов.

Действительно, многие стратегии кардиопротекции, основывавшиеся на использовании одноцелевого подхода, потерпели неудачу в клинических условиях, в то время как мультитаргетный подход, направленный на более чем одну молекулярную мишень или внутриклеточные сигнальные пути, заявил себя как более эффективная стратегия лечения ССЗ, особенно в случае наличия сопутствующих заболеваний. «Мультитаргетный эффект» может быть достигнут либо с помощью одной активной молекулы с комплексным механизмом действия [188], либо комбинацией соединений с различными механизмами [12]. Использование мультитаргетного подхода особенно актуально при разработке кардиопротекторных средств в группе блокаторов ионных каналов, что в первую очередь связано с тем, что потенциал действия (ПД) кардиомиоцитов является результатом сложного взаимодействия между большим количеством входящих и исходящих ионных токов [189–191].

Анализ современных и ранее используемых клинически эффективных средств для лечения ССЗ, веществ с антиаритмической, противоишемической и другими видами кардиопротекторной активности в доклинических исследованиях, а также молекул, продемонстрировавших свой потенциал *in vitro* по отношению к различным мишеням, вовлеченным в механизмы кардиопротекторного действия, позволяет выделить отдельную обширную группы соединений, соответствующих обобщенной фармакофорной модели **1.3.1**, представленной на рис. 43. Эта модель имеет следующую структуру: молекула активного соединения содержит два ароматических цикла (отмечены красным), соединенные линкером (обозначены синим). Длина и структура линкера широко варьируются, при этом в подавляющем большинстве случаев линкер содержит один или несколько гетероатомов. Как правило, количество связей в линкере составляет около 7-10, но в некоторых случаях оно может варьироваться от 5 до 15. Кроме того, в этом линкере

[1] Обзор литературы и сбор баз данных для дизайна новых потенциальных кардиопротекторов

часто присутствуют циклический фрагмент или боковые заместители. Строение ароматических фармакофоров также довольно разнообразно, один из них может быть гетероароматическим. Наиболее распространенными заместителями в ароматических кольцах являются метоксигруппы (обозначены темно-красным цветом), которые широко представлены почти во всех группах кардиопротекторных средств.

Указанное выше структурное сходство широкого спектра соединений с кардиопротекторными свойствами и, как следствие, наличие у них единой обобщенной фармакофорной модели, свидетельствует о структурном сходстве мишеней этих препаратов и их сайтов связывания. Кроме того, этот факт подтверждает современное представление о том, что эффективные и безопасные кардиозащитные препараты должны иметь мультитаргетный механизм действия [182–187].

Для большей наглядности все соединения, соответствующие указанной фармакофорной модели, окрашены в настоящем разделе аналогичным образом: ароматические группы выделены красным цветом, а связывающий их линкер – синим.

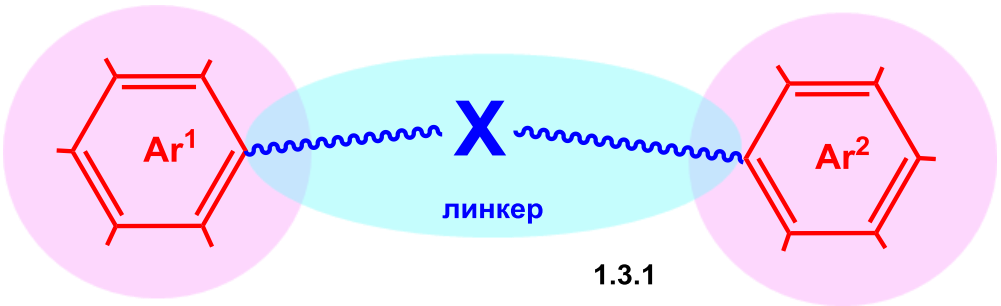


Рисунок 43. Обобщенная фармакофорная модель биароматических соединений, связанных линейным линкером, обладающих кардиопротекторными свойствами. Буква «X» в ликере указывает на наличие в нем хотя бы одного гетероатома.

1.4.1. Биароматические блокаторы кальциевых каналов

Наиболее важными потенциал-зависимыми кальциевыми каналами в сердечно-сосудистой системе являются L- (медленные кальциевые каналы) и T-типы (быстрые кальциевые каналы) [192]. L-каналы инактивируются медленно, через них в клетку проникает большая часть внеклеточного кальция, T-каналы быстро инактивируются, и ток кальция через них незначителен.

Ток ионов Ca^{2+}через L-каналы формирует плато потенциала действия. В синатриальном узле (САУ) ионы кальция принимают участие в обеспечении функции водителя ритма, в атриовентрикулярном (АВ) соединении регулируют проведение возбуждения. В гладкомышечной ткани каналы L-типа необходимы для электромеханического сопряжения процессов возбуждения и сокращения. Блокирование

медленных каналов препятствует поступлению ионов кальция в клетку и угнетает или полностью блокирует сокращение без существенного влияния на ПД.

Каналы Т-типа локализованы в пейсмейкерных областях сердца (САУ, АВ узел и волокна Пуркинье), где они, как считается, вносят вклад в пейсмейкерную активность САУ и АВ-проводимость. Инактивация Ca^{2+} -каналов Т-типа приводит к брадикардии и задержке АВ-проводимости, что подчеркивает важность этого канала в обеспечении нормального сердечного ритма [193–195].

1.4.1.1. Блокаторы кальциевых каналов L-типа

Первым представителем семейства блокаторов кальциевых каналов был верапамил, открытый в Knoll AG в конце 1950-х – начале 1960-х годов. Верапамил является блокатором кальциевых каналов L-типа (pKi = 8,00 [196]), показанным для лечения ишемической болезни сердца (ИБС), стенокардии, наджелудочковых тахидисритмий и гипертонии [197, 198].

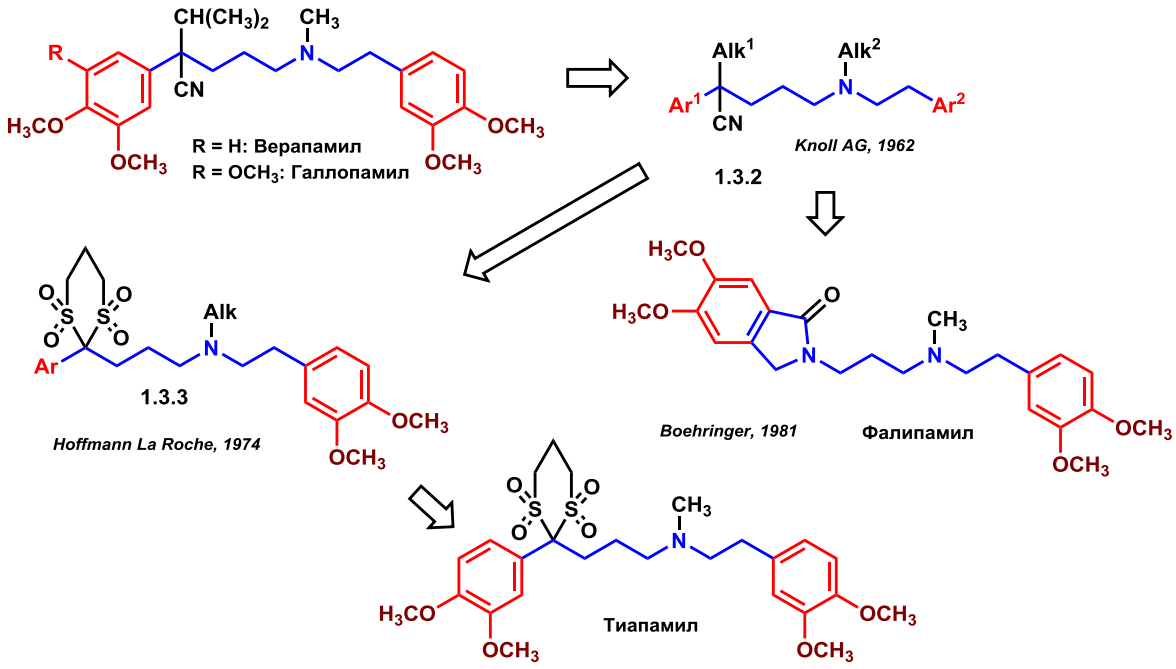


Рисунок 44. Разработка производных верапамила

В процессе создания верапамила компанией Knoll AG был получен ряд его аналогов **1.3.2**, представленных в патенте 1966 г, имеющих такой же азотсодержащий линкер с длиной в 8 связей и различающихся строением ароматических групп и алкильных заместителей в линкере (рис. 44). Одним из активных аналогов верапамила в этой серии был галлопамил, отличие которого от верапамила заключалось в наличии дополнительной метоксигруппы в одном из ароматических колец [199]. Как и верапамил, галлопамил имеет высокое сродство к кальциевым каналам L-типа (IC_{50} = 17 нМ) [200].

Группа исследователей из Hoffman La Roche (1970-ые гг) запатентовала группу аналогов верапамила **1.3.3**, содержащих полностью *S*-окисленный 1,3-дитиановый фрагмент вместо циано- и изопропильных групп прототипа [201]. В серии новых соединений в качестве лидерного соединения был выбран тиапамил, который полностью повторял структуру верапамила за исключением указанной модификации в линкере. Подобно верапамилу, тиапамил дозозависимо ингибировал вызванные кальцием сокращения в изолированных препаратах почечной артерии, коронарной артерии собаки и главной легочной артерии кролика [202]. Этот препарат вызывал дозозависимое ингибирование связывания [^{3}H]-дезметоксиверапамила с мембранами тканей сердца свиней (IC_{50} = 250 нМ) [203]. Другим активным производным верапамила является фалипамил, открытый в компании Boehringer. Разница между структурами фалипамила и верапамила заключается в замене линкерного фрагмента с циано- и изопропильными заместителями на бутиралактамный цикл, сочлененный с соответствующим ароматическим ядром [204].

В 1986 г American Home Products Corporation получила патенты на группу биароматических соединений **1.3.4**, созданных как комбинация блокатора кальциевых каналов верапамила и антагониста кальмодулина W-7 (рис. 45). От верапамила молекулы новой группы получили общую биароматическую структуру, 3,4-диметоксифенэтилльный фармакофор и заместители в линкере. От соединения W-7 был использован арилсульфонамидный фармакофор [205, 206].

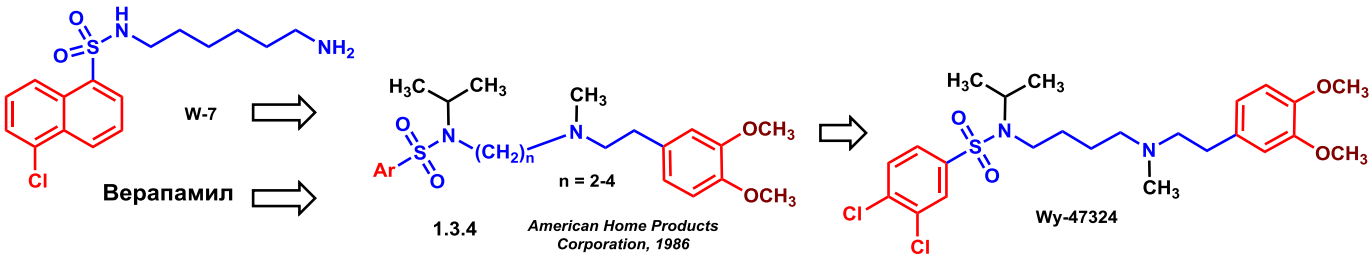


Рисунок 45. Конструирование Wy-47324 и его группы

Одним из наиболее активных (модель аритмии у крыс) соединений оказалось Wy-47324, которое содержит 3,4-дихлорфенильную группу и линкер с длиной в 10 связей [207].

Группа исследователей из Санофи в 1990 году получила патент на группу **1.3.5**, созданную на основе производных сульфонилбензофурана **1.3.6**, обладающих сосудорасширяющей активностью (рис. 46). Наилучшие кальций-блокирующие свойства показали соединения, содержащие одну или две метоксигруппы в фенильном кольце. Тип гетероциклического кольца не оказывает значительного влияния на эффективность

молекул, но важным оказалось присутствие изопропильной группы в *o*-положении относительно сульфогруппы. Оптимальные значения n и m составляли 2-3 [208].

Среди соединений группы **1.3.5** в качестве лидеров были выбраны фантофарон с индолизиновым гетероциклом и сходное соединение SR 33805 с индольным гетероциклом. Фантофарон ингибировал Ca^{2+}-индуцированные сокращения в препаратах K^+-деполяризованной аорты с IC_{50} = 5.6 нМ, а SR 33805 – с IC_{50} = 37.5 нМ [209].

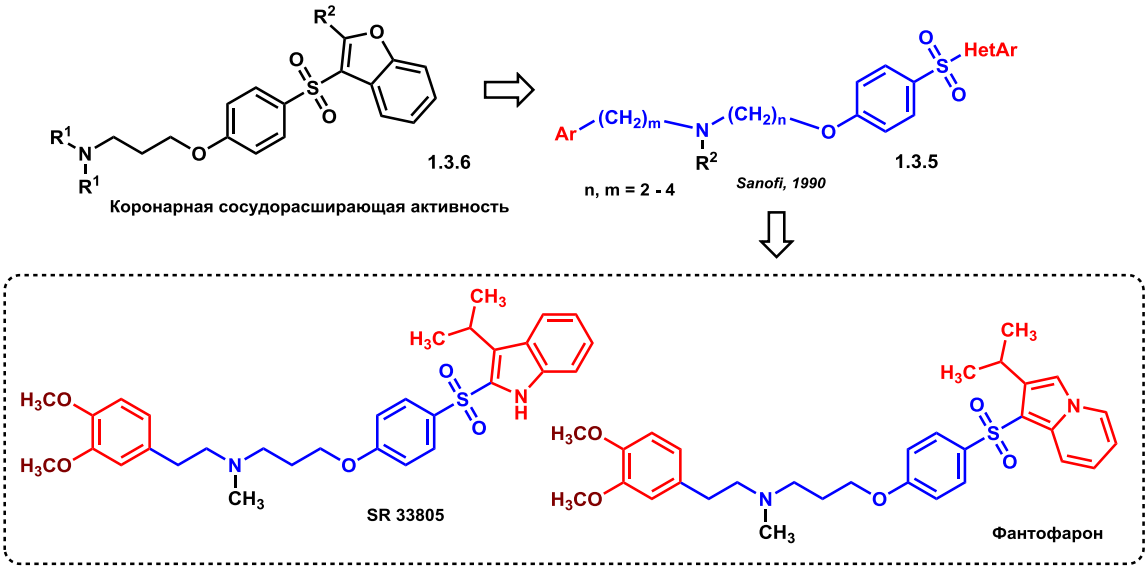


Рисунок 46. Конструирование фантофарона и его аналогов

В 1988 г Yamamoto с соавторами описали производные бензотиазолина **1.3.7** со свойствами антагонистов кальция (рис. 47). Эти соединения сочетают тиоанилиновый фармакофор дилтиазема, связанный с метоксифенильным кольцом, и биароматическую структуру верапамила. Среди соединений этого ряда лучшими кальций-блокирующими свойствами обладают соединения, содержащие метоксигруппы во втором ароматическом кольце. Лидерное соединение SA2572 с 3,4,5-триметоксифенильным кольцом и линкером с длиной в 9 связей имело $IC_{50} = 1{,}3 * 10^{-7}$ М [210].

Основываясь на этих данных, те же авторы описали группу 3-оксо-2*H*-1,4-бензотиазиновых аналогов SA2572 **1.3.8**. В этом случае в качестве арильного фармакофора были использованы различные алкоксифенильные группы. В состав линкера был добавлен дополнительный атом кислорода. Все соединения новой серии показали высокую кальций-блокирующую активность (IC_{50} < 1 μM). Для дальнейшей разработки было отобрано соединение семотиадил, которое имело самую лучшую кардиоселективность (IC_{50} = 0.089 μM). Его энантиомер левосематиадил был в 7 раз менее активным (IC_{50} = 0.6 μM) [211].

В 1995 г. Campiani с соавторами предприняли целенаправленную попытку объединить в одной молекуле различные подклассы известных в то время ингибиторов кальциевых каналов L-типа. В частности, они создали соединение Campiani-10d – гибрид

верапамила и дилтиазема, используя пирроло[2,1-*c*][1,4]бензотиазиновое ядро с аналогичными ароматическими фармакофорами и сходным линкером. Значение IC_{50} для этого соединения составляло 53 нМ [212]. Yamamori с соавторами в том же 1995 году предложили группу производных дилтиазема, содержащих дополнительный ароматический фармакофор, подобный верапамилу, связанный с основной цепью дилтиазема пиперазин-содержащим линкером. Выбранное лидерное соединение S-2150 содержит *о*-метоксифенильную группу [213]. В изолированной грудной аорте крысы значение IC_{50} для S-2150 составляло 190 нМ.

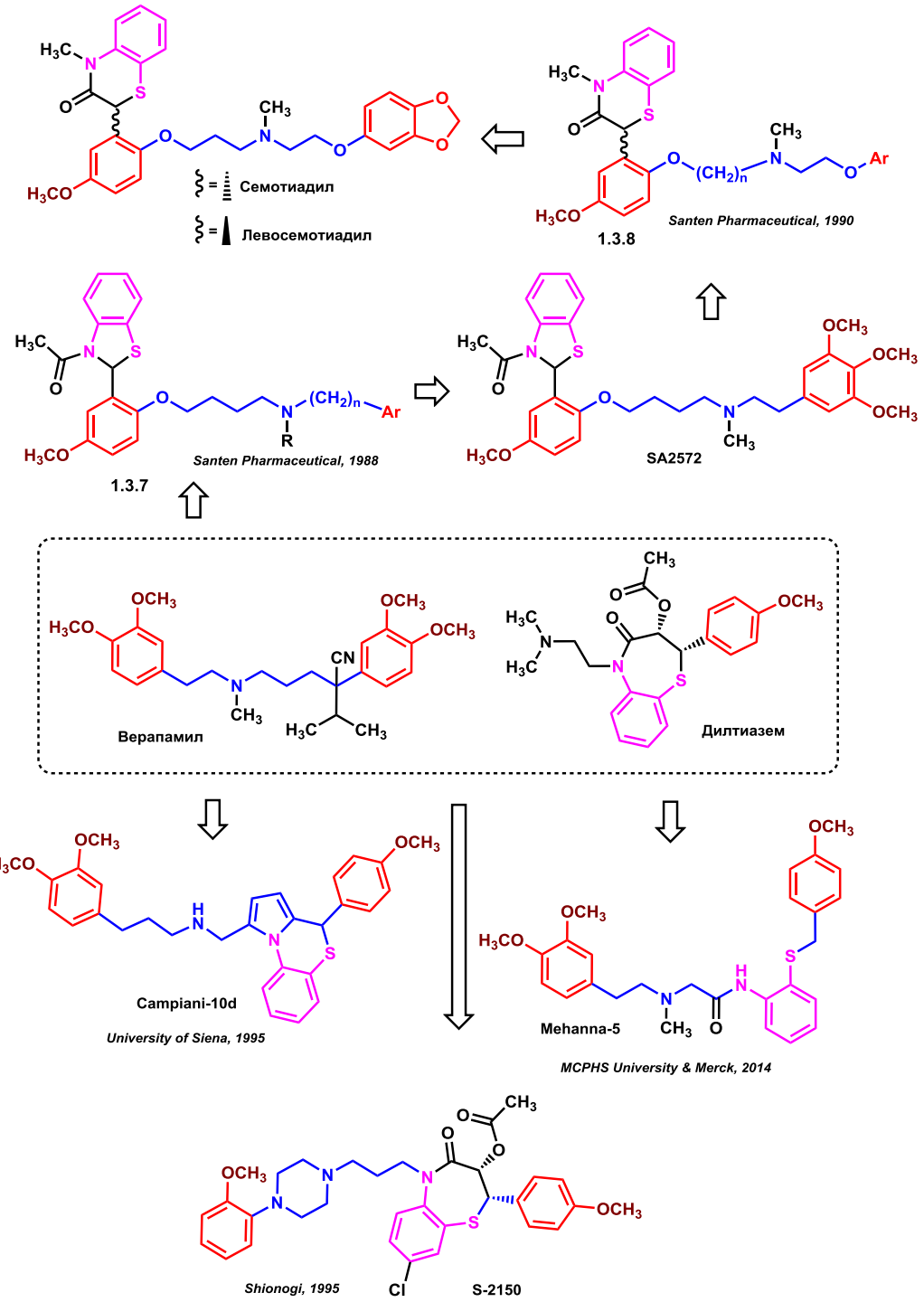


Рисунок 47. Дизайн гибирдов верапамила и дилтиазема

Другой вариант комбинации молекул верапамила и дилтиазема был предложен Mehanna с соавторами (2014 г). Эти исследователи оставили *о*-тиоанилиновый фрагмент дилтиазема, связанный гетероатомами через линкеры с ароматическими фармакофорами своих прототипов. Одно из созданных таким образом соединений, Mehanna-5, имело значение IC_{50} 3.72 μM, что оказалось ниже, чем у прототипов верапамила (0.45 мкМ) и дилтиазема. (0.26 μM) [214].

Заключение по блокаторам Ca^{2+}-каналов L-типа

Блокаторы Ca^{2+}-каналов L-типа широко представлены среди БСЛ. Обобщенная фармакофорная модель блокаторов тока Ca^{2+}-каналов L-типа содержит следующие элементы (рис. 48). Две ароматические группы в большинстве соединений содержат по две метоксигруппы, хотя встречаются и соединения с другим числом метоксигрупп, с атомами галогена или сопряженными кольцами. Линкер, который связывает арильные фармакофоры, имеет длину 8-12 связей и содержит центральный атом азота, обычно замещенный метильной группой, два алифатических мостика и липофильную область, которая может являться объемной алкильной группой или кольцом. В линкере также присутствует группа с гетероатомом, содержащим пару электронов (CN, SO_2, CO) вблизи липофильной области. Иногда линкер содержит дополнительное ароматическое кольцо или гетероатом, а липофильная область может быть частью заместителя в одном из ароматических ядер.

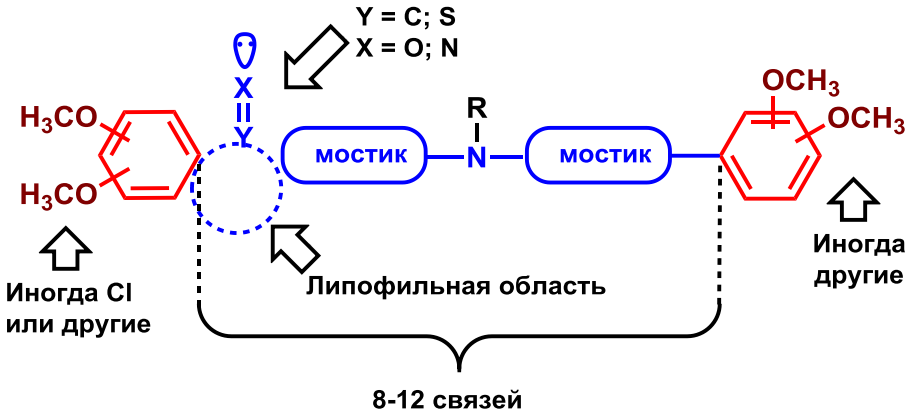


Рисунок 48. Модель блокаторов Ca^{2+}-каналов L-типа

1.4.2. Блокаторы HCN-каналов

Управляемые циклическими нуклеотидами гиперполяризационно-активируемые каналы (HCN) представляют собой семейство неселективных катионных каналов, проводящих ионы натрия и калия через плазмалемму, генерирующих ток, называемый I_f (*funny* — забавный) в сердце. HCN-каналы играют ключевую роль в контроле над сердечной ритмической активностью, обеспечивая функционирования токов-водителей

ритма [215, 216]. У млекопитающих существует четыре изоформы каналов HCN (HCN1-HCN4), последовательность которых примерно на 60% идентична друг другу [217].

HCN4 является основным подтипом канала HCN, присутствующим в САУ, пейсмейкерной области сердца. В САУ каналы HCN4 активируются за счет гиперполяризации после сердечного потенциала действия. Затем каналы HCN4 проводят направленный внутрь ток и деполяризуют клетку, что приводит к активации потенциалзависимых Ca^{2+} каналов, что, в свою очередь, обеспечивает срабатывание следующего сердечного потенциала действия [218, 219].

Поиски соединений группы «блокаторы каналов HCN» начались более 50 лет назад, еще до самого открытия тока I_f, в рамках программы по созданию «специфических брадикардических средств». Значительно позже для первых представителей этой группы были определены характеристики их взаимодействия с HCN-каналом и его подтипами. Значительная часть разрабатываемых в различных исследовательских группах блокаторов HCN-каналов соответствуют обобщенной фармакофорной модели кардиопротекторов, представленной на рис. 43.

В начале 1980-х гг. исследователи из компании Boeringher синтезировали серию производных фенилалкиламинов **1.3.9**, сконструированных на основе верапамила, с целью улучшения его отрицательной хронотропной активности и оптимизации других гемодинамических эффектов. Оставив диметоксифениларомaтические группы верапамила без изменений, авторы заменили фрагмент его спейсера, содержащий изопропильную и нитрильную группы, на лактамное кольцо различного размера, сопряженное с одним из фенильных колец. Кроме того, проводилась оценка влияния на биологическое действие длины линкера и наличия в нем дополнительного гетероатома (рис. 49). В результате изучения связи структура-брадикардическая активность было отобрано соединение затебрадин [204]. Препарат был выпущен компанией Boehringer в качестве брадикардического средства с избирательным действием на ток водителя ритма в синусовом узле [220].

Успех разработки затебрадина повлек за собой ряд работ по поиску его активных аналогов как в компании Boehringer, так и в других группах. Первым направлением модификации молекулы затебрадина было изучение замены диметоксифенильного фармакофора на различные гетероциклы и варьирование длины алифатического линкера (соединения **1.3.10**). Среди производных этого типа наиболее активными оказались соединения, содержащие тиофеновые, бензотиофеновые и бензофурановые гетероциклы с длиной линкера (n) в 2-4 метиленовых звена. Соединение Bomhard-33 из этого ряда сочетало в себе высокую брадикардическую эффективность и селективность с короткой

продолжительностью действия [221]. Другим направлением в поиске производных затебрадина в компании Boehringer было изучение введения в линкер циклического азотсодержащего фрагмента [222]. Анализ связи «структура-активность» соединений **1.3.11** как с разным размером кольца и длиной линкера, так и с разными ароматическими группами позволил выявить цилобардин, который оказался близким аналогом затебрадина. Единственным отличием является наличие в линкере молекулы цилобрадина пиперидинового кольца [223]. Цилобрадин блокирует I_f более эффективно и быстрее по сравнению с затебрадином [224]. Эффекты цилобрадина на HCN-каналы и I_f-ток в клетках САУ и *in vivo* продемонстрировали сходство в блокаде всех подтипов HCN-каналов и нативного I_f: значения IC_{50} для HCN1-HCN4 (клетки HEK293) находились в диапазоне 0.90-1.15 мкМ, а $IC_{50}(I_f)$ составлял 0.62 мкМ [225].

С 2003 года исследователи из Yamanouchi Pharmaceutical занимались поиском специфических брадикардических средств **1.3.12** на основе структур затебрадина и цилобрадина. В этом случае бензоазепановое кольцо было заменено на тетрагидроизохинолиновое, а в центральной части линкера, как и в цилобрадине, был использован пиперидиновый фрагмент. Длина линкера, связывающего ароматические части молекулы, варьировалась в широких пределах. Первым соединением в этой серии было Kakefuda-6c, показавшее наилучшие результаты в исследуемой серии по брадикардической активности [226].

Дальнейший поиск активных соединений исследовательской группой из Yamanouchi привел к выявлению следующих соединений. Вещество Kubota-11e продемонстрировало более выраженную активность как *in vitro*, так и *in vivo* в сравнении с затебрадином. Можно отметить, что в структуре Kubota-11e длина линкера соответствует таковой для цилобрадина и затебрадина [227]. Карбонильный аналог Kubota-11e, соединение Kubota-10a, показал 4-кратное увеличение активности *in vitro* (EC_{30} = 0,067 μM) [228]. Увеличение длины линкера, связывающего ароматические фармакофоры соединения Kubota-10a, и изменения положения карбонильной группы позволило получить соединение Kubota-8a с длиной линкера в 12 связей. Это вещество имело аналогичную активность *in vitro* (величина EC_{30} 0.07 μM) и проявляло выраженную и высокоспецифическую брадикардическую активность *in vivo* [229].

Поиск активных производных соединений Kubota-11e, Kubota-10a и Kubota-8a привел к созданию соединения YM758, которое содержит две амидные группы в линкере длиной 11 связей и атом фтора в свободной ароматической группе. YM758 разрабатывался для лечения стабильной стенокардии и ФП компанией Astellas Pharma [230].

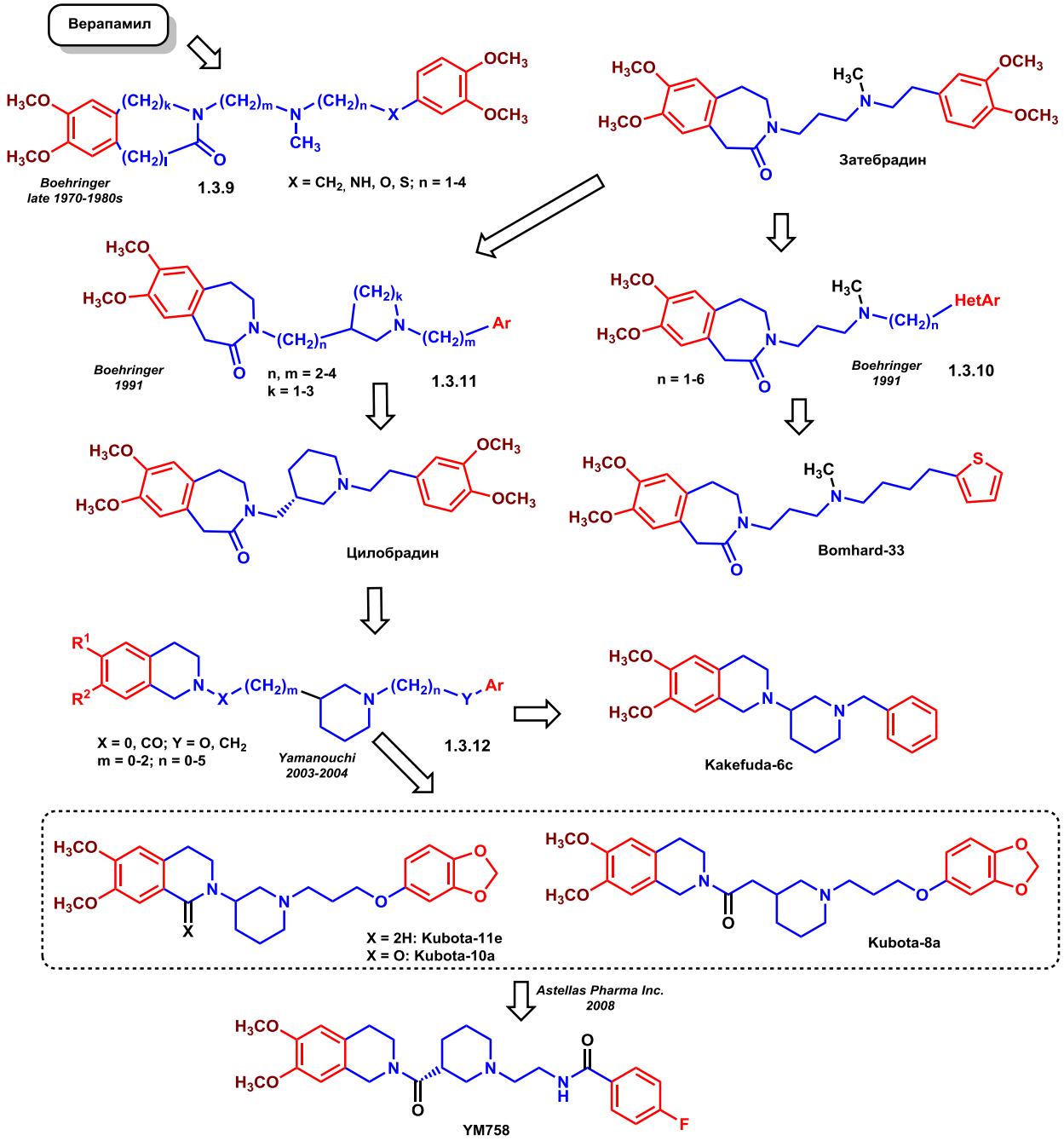


Рисунок 49. Создание «специфических брадикардических средств» и блокаторов HCN-каналов в ряду аналогов затебрадина

В 1992 г. компания Servier начала программу по поиску соединений с брадикардической активностью в ряду производных затебрадина **1.3.13**, в которых был сохранен диметоксифенильный фармакофор, сопряженный с азепиноновым кольцом, а второй ароматический фармакофор был сконденсирован с циклоалкановым фрагментом (рис. 50). Наиболее активным соединением в этом ряду оказался ивабрадин, молекула которого очень близка к затебрадину и отличается только наличием циклобутанового фрагмента; длина линкера, связывающего ароматические фармакофоры, составляет 10 связей аналогично затебрадину [231]. Согласно более поздним исследованиям, ивабрадин

является эффективным блокатором всех подтипов HCN-каналов (на клетках HEK293): IC_{50}(HCN1) = 2.05 мкМ; IC_{50}(HCN2) = 2.29 мкМ; IC_{50}(HCN3) = 2.51 мкМ; IC_{50}(HCN4) = 2.15 мкМ [225] [232].

Ивабрадин по своему брадикардическому действию столь же эффективен, как и затебрадин, однако он оказался более специфичным, так как вызывал меньшее увеличение продолжительности потенциала действия [233]. Ивабрадин был одобрен в 2005 г. Европейским агентством по оценке лекарственных препаратов (EMEA) для лечения хронической стабильной стенокардии и в 2015 г. FDA для лечения стабильной ХСН [234].

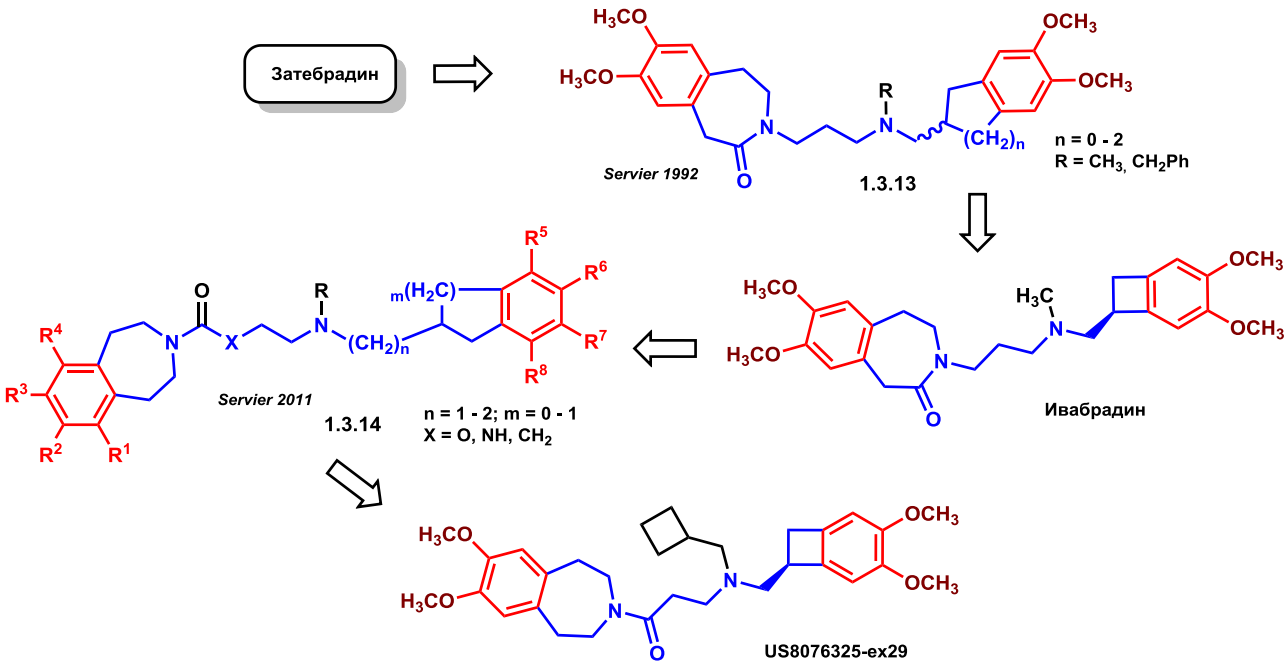


Рисунок 50. Разработка ивабрадина и его аналогов

Наряду с успешной разработкой ивабрадина компания Servier продолжила исследования по поиску его активных производных. В 2011 году компания запатентовала группу соединений **1.3.14**, отличающуюся тем, что карбонильная группа из азепинонового кольца ивабрадина был перенесена на линейную часть молекулы. Другие компоненты молекулы варьировались довольно широко: длина спейсера, заместитель у атома азота, заместители в ароматических группах. Одним из наиболее активных соединений было US8076325-ex29, которое снижал начальную частоту сокращений правого предсердия крыс на 30% при 0.4 мкМ [235].

В 2001 г. Bom и соавт. представили синтез аналогов затебрадина **1.3.15**, отличающихся наличием двойной связи в азепиновом кольце (рис. 51). Влияние дегидроаналогов затебрадина **1.3.15** на ЧСС изучали на изолированных предсердиях морских свинок. В этом ряду достоверной связи структура-активность выявлено не было, все соединения проявляли угнетение скорости ритма с разной степенью выраженности.

Наибольшее действие оказывало соединение Bom-8g, содержащее метоксифенильный ароматический фармакофор и аллильный заместитель у атома азота, которое в концентрации 3 μM ингибировало ЧСС на 80%. Авторы подчеркивают, что наблюдаемый эффект может быть обусловлен не только блокадой I_f-канала, но и блокадой кальциевого канала L-типа [236].

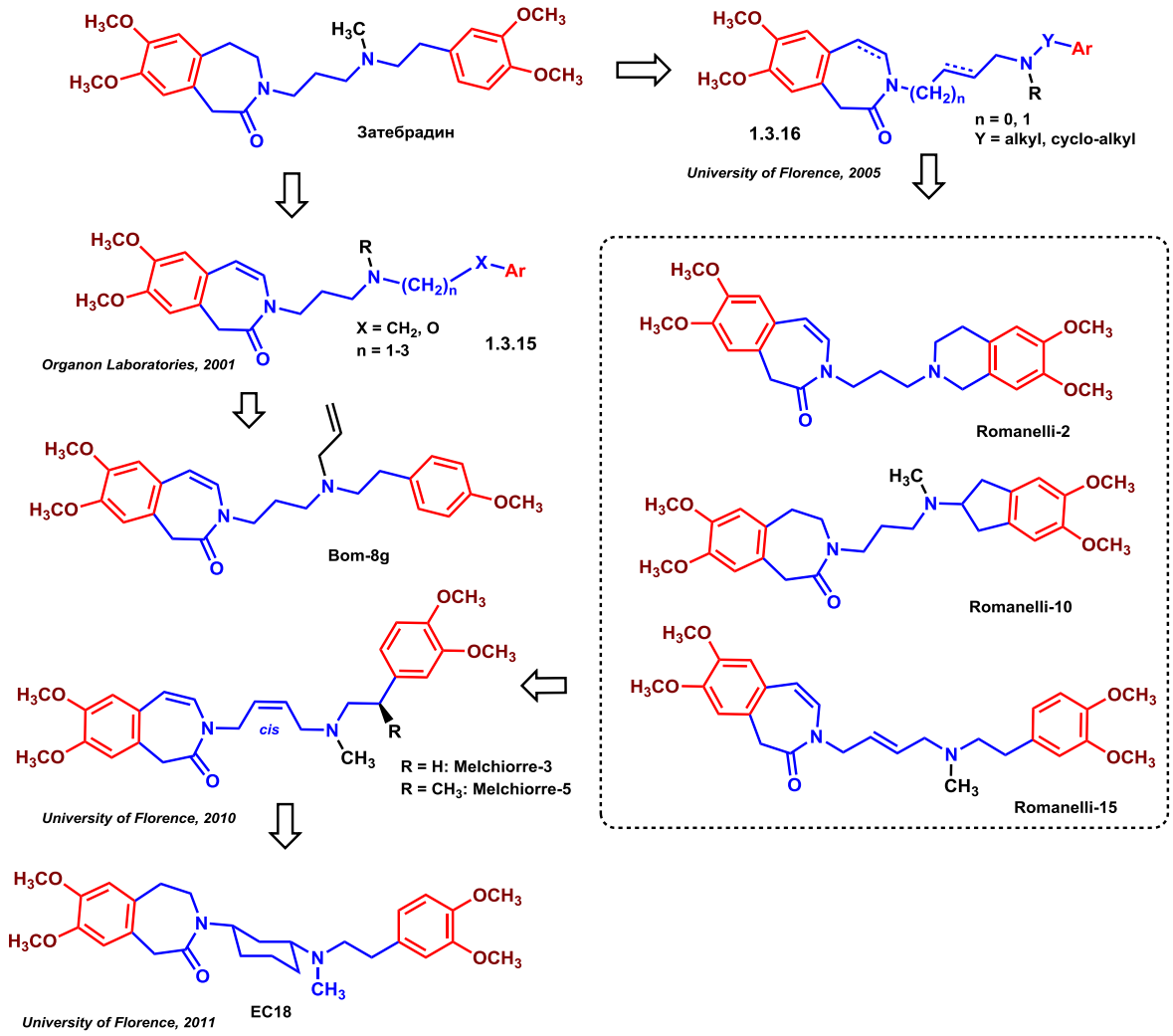


Рисунок 51. Создание бензоазепановых аналогов затебрадина

В 2005 году группа ученых из Университета Флоренции исследовала аналогичные аналоги затебрадина **1.3.16**, характеризующиеся наличием одной или двух двойных связей в линкере, связывающем ароматические группы. Также авторы варьировали структуру свободной ароматической группы, длину линкера и анализировали добавление насыщенного алициклического или *N*-содержащего кольца, связанного со второй ароматической группой. Испытания на правом предсердии морской свинки показали, что наличие двойной связи в кольце бензазепинона приводит к более эффективным соединениям, чем их насыщенные аналоги. В то же время сочетание второго ароматического кольца с пиперидином (Romanelli-2) и циклопентановым кольцом (Romanelli-10) дает соединения лишь в 2-3 раза менее активные, чем затебрадин.

Наиболее активным соединением оказалось Romanelli-15, отличающееся от затебрадина увеличением длины линкера на одно звено и наличием двух двойных связей: в азепановом кольце и в алифатической цепи. Romanelli-15 был равноэффективен с затебрадином: значения EC_{30} для отрицательной хронотропной активности составляли 11.3 мкМ и 13.4 мкМ, соответственно, а остаточный ток I_f составлял ~40% от контроля при концентрации 10 мкМ для обоих препаратов [237].

В 2010-х годах исследователи из Университета Флоренции продолжили поиск активных аналогов Romanelli-15 с упором на поиск подтип-селективных блокаторов I_f. Было обнаружено, что соединения Romanelli-15, Melchiorre-3 и Melchiorre-5 способны блокировать I_f с активностью, аналогичной ивабрадину, по крайней мере, в отношении одной изоформы. Соединение Romanelli-15 преимущественно блокировало канал HCN1, его значения EC_{50} были для этого подтипа в 3 и 7 раз ниже, чем для HCN4 и HCN2 соответственно. Сдвиг конфигурации двойной связи с *транс* на *цис* изменил предпочтение к изоформам HCN, поскольку Melchiorre-3 был одинаково активен в отношении HCN1 и HCN4 и в 4 раза менее активен в отношении HCN2. Введение метильной группы в фенилэтильный фрагмент изменило профиль селективности Melchiorre-3: Melchiorre-5 был в 4 и 10 раз более активен в отношении HCN2, чем в отношении HCN1 и HCN4, соответственно. Все перечисленные соединения продемонстрировали близкие значения EC_{50} по снижению ЧСС в изолированных предсердиях морской свинки (7.1-15.8 мкМ) [238]. С учетом полученных данных в последующей работе авторы представили соединение EC18, аналог зетебрадина и Melchiorre-3, содержащее циклогексановое кольцо в линкере. Это соединение продемонстрировало 5-кратное предпочтение к HCN4 по сравнению с HCN2 и HCN1 (EC_{50} (HCN4) = 3.98 мкМ) [239].

Rieu с соавторами в 1993 г описали группу бензоксазиновые аналоги затебрадина и фалипамила **1.3.17** (рис. 52). Одно из ароматических колец соединений **1.3.17** сконденсировано с насыщенным оксазиноновым кольцом, через которое оно связано азаалкановым линкером со вторым ароматическим кольцом. В качестве заместителей в ароматических кольцах использовались преимущественно метокси-группы, а также галогены или нитрогруппа.

Специфическую брадикардическую и антиаритмическую активность новых соединений оценивали на крысах. Оптимальная брадикардическая активность наблюдалась в соединениях, у которых ароматические кольца имели в качестве заместителей метокси-группы, а амин связывающей цепи был *N*-метилирован. *N*-деметилированные и 2-алкилированные производные проявляли наибольшую

антиаритмическую активность, но имели небольшой брадикардический эффект. Было обнаружено, что наиболее активным соединением является F3226, который представляет собой полный оксазиновый аналог затебрадина [240].

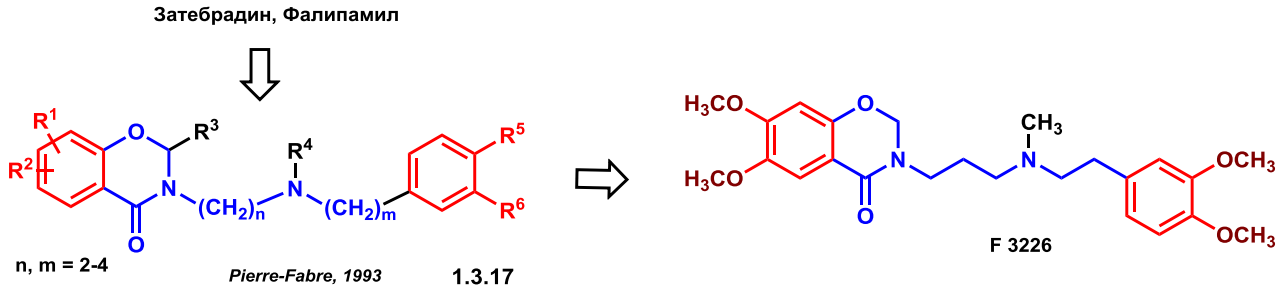


Рисунок 52. Создание бензоксазиновых аналогов затебрадина

Выводы по блокаторам HCN-каналов

В результате анализа литературы было установлено, что в серии биароматических соединений несколькими исследовательскими группами был выделен большой спектр соединений с блокирующей активностью каналов HCN. Практически все лидерные соединения в исследованных группах соответствуют достаточно определенной модели, представленной на рис. 53. Модель блокаторов каналов HCN содержит две орто-диметоксифениларомaтические группы. Одна из этих групп связана с насыщенным или частично насыщенным лактамным кольцом, которое через атом азота связано со спейсером 1. Этот спейсер представляет собой либо линейную алифатическую цепь, либо содержит насыщенный циклический фрагмент. Спейсер 1 связан с центральным атомом азота, который либо содержит небольшой заместитель, либо входит в состав циклического фрагмента спейсера 1. Спейсер 2 связывает центральный атом азота со второй ароматической группой, и он имеет либо линейное строение, либо содержит небольшой алицикл, связанный с ароматической группой. Общая длина линкера, связывающего ароматические группы, составляет около 10 связей. Специфичность связывания молекул с подтипами рецепторов HCN в первую очередь определяется специфической структурой и геометрией спейсеров 1 и 2.

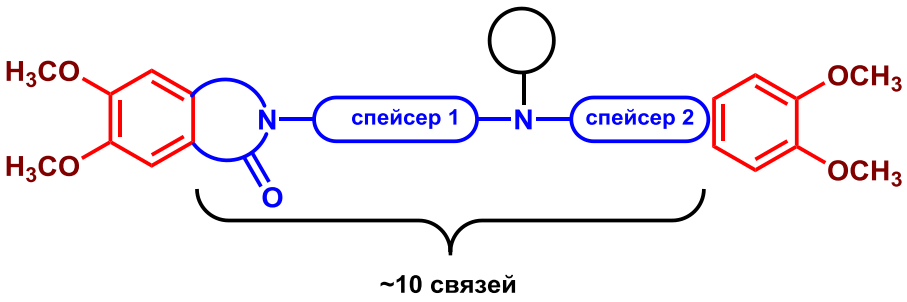


Рисунок 53. Модель блокаторов HCN-каналов

1.4.3. Блокаторы натриевых каналов.

Ионный ток натрия I_{Na} в сердце продуцируются в основном каналами Nav1.5, которые отвечают за создание потенциала действия и быструю деполяризацию сердца [241] Каналы Nav1.5 могут находиться в трех состояниях: закрытые, когда мембрана имеет потенциал покоя; открытые, во время деполяризации; и неактивный, в состоянии непроводимости. Инактивация осуществляется благодаря «воротам инактивации», которые находятся во внутриклеточной петле, соединяющей домены III и IV [242]. Кроме того, восстановление в состоянии инактивации происходит во время реполяризации в диастолу [243]. Nav1.5 предпочтительно экспрессируется в предсердиях, волокнах Пуркинье и желудочках, в то время, их экспрессия в САУ и атриовентрикулярном узле низка [244].

Согласно современной классификации антиаритмических средств Lei с соавторами блокаторы натриевых каналов относятся к I классу и делятся на 4 подкласса [245]. К подклассам Ia и Ib относятся соединения, блокирующие канал Nav1.5 в открытом состоянии с различной степенью констант диссоциации. Такие средства вызывают уменьшение эктопического желудочкового/предсердного автоматизма, снижение проведения по дополнительным путям, увеличение рефрактерного периода, предотвращают «re-entry» механизм [246]. Препараты подкласса Ic связываются с Nav1.5 в неактивном состоянии. Они вызывают снижение пикового I_{Na}, повышение порога возбуждения; замедление проведения потенциала действия по предсердиям, желудочкам и проводящим путям; снижение общей возбудимости; пролонгацию длительности потенциала действия при высокой ЧСС [247]. Соединения подкласса Id блокируют поздний ток Nav1.5. Именно такими свойствами обладает целый ряд биароматических соединений.

Поздний ток I_{Na} является составной частью натриевого тока, которая сохраняется еще долго после быстроинактивирующего компонента. Величина позднего I_{Na} относительно мала у всех видов и во всех типах кардиомиоцитов по сравнению с амплитудой быстрого натриевого тока, но вносит значительный вклад в форму и продолжительность потенциала действия (ПД). Было показано, что этот поздний компонент увеличивается при некоторых приобретенных или врожденных состояниях, включая гипоксию, окислительный стресс и сердечную недостаточность, или из-за мутаций в гене SCN5A, а также в белках, взаимодействующих с каналами, включая множественные β-субъединицы и якорные белки. У пациентов с усиленным поздним I_{Na} выявляется синдром удлиненного интервала QT 3 типа (LQT3), характеризующийся высокой склонностью к опасным для жизни желудочковым аритмиям, таким как Torsade

de Pointes (TdP), а также к ФП [248, 249]. Все это свидетельствует о том, что поздний I_{Na} является важной терапевтической мишенью для разработки кардиопротекторных препаратов.

В 1986 г. компанией Syntex была запатентована группа кардиоселективных арилокси- и арилтио-гидроксипропилен-пиперазинилацетанилидов **1.3.18** со свойствами блокады входа кальция, которые были разработаны на основе известных соединений, влияющих на различные физиологические системы, связанные с адренергическим контролем (рис. 54) [250].

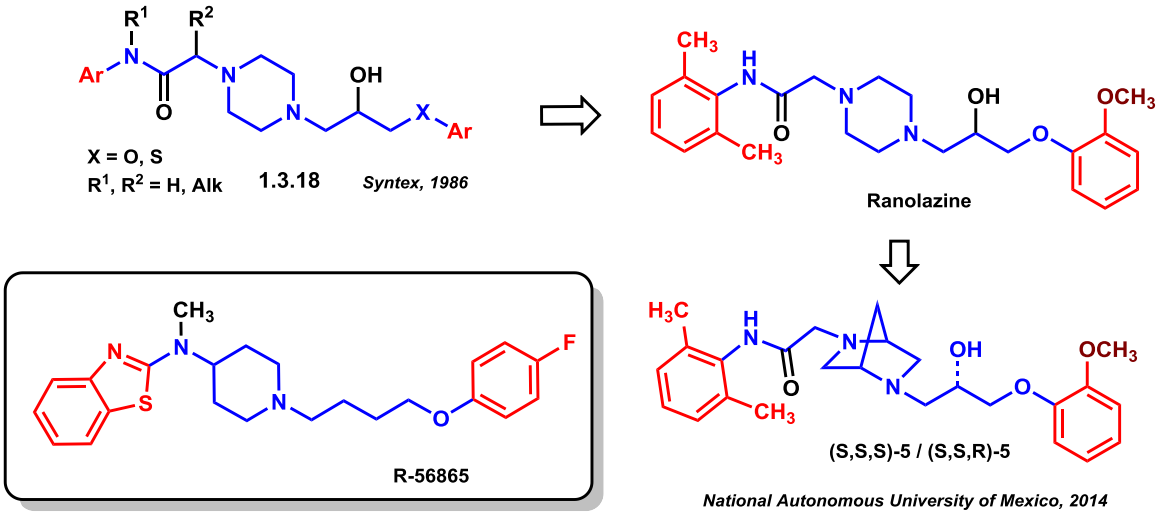


Рисунок 54. Раналозин и его аналоги

К сожалению, результаты изучения связи «структура-активность» внутри этой группы в литературе не представлены, а в 1992 г. были опубликованы результаты клинического исследования лидерного соединения из этой группы, получившего название ранолазин (RS 43285), показавшие его эффективность в качестве антиишемического средства [251]. Ранолазин ингибирует позднюю фазу натриевого тока (IC_{50} = 7 мкМ), которая патологически увеличивается при ишемии [249]. В 2006 году ранолазин был одобрен FDA для лечения хронической стенокардии [252].

Два диазабициклических аналога ранолазина, (S,S,S)-5 и (S,S,R)-5, которые были получены заменой пиперазинового кольца на диазабицикло[2.2.1]гептановый фрагмент, показали существенно большее сосудорасширяющее действие, чем у ранолазина [253].

В конце 1980-х годов исследователи из Janssen Pharmaceuticals при изучении ряда веществ с антигипоксантной активностью выявили соединение R-56865, обладающее кардиопротекторными свойствами (рис. 54). R-56865 эффективно препятствует развитию аритмий, вызванных ишемией и реперфузией в ряду животных моделей [254]. Позже было показано, что кардиопротекторные свойства R-56865 обусловлены блокадой позднего

натриевого тока ($I_{Na,late}$) [255]. При этом R-56865 не влияет на ток кальция L-типа [256, 257].

В 1996 г. Kali-Chemie Pharma запатентовала группу биароматических соединений **1.3.19**, содержащих пятичленный гетероциклический фрагмент в линкере, в качестве потенциальных лекарственных средств, которые можно использовать для снижения ЧСС и лечения ИБС. Авторы указывают, что эта серия получена как оптимизированные производные *N*-метилгомовератриламина (рис. 55). Практически все соединения, представленные в патенте, в концентрациях от 0.55 до 10 мкМ проявляли брадикардический эффект и цитопротекторный эффект в отношении сокращения предсердий, вызванного гипоксией [258].

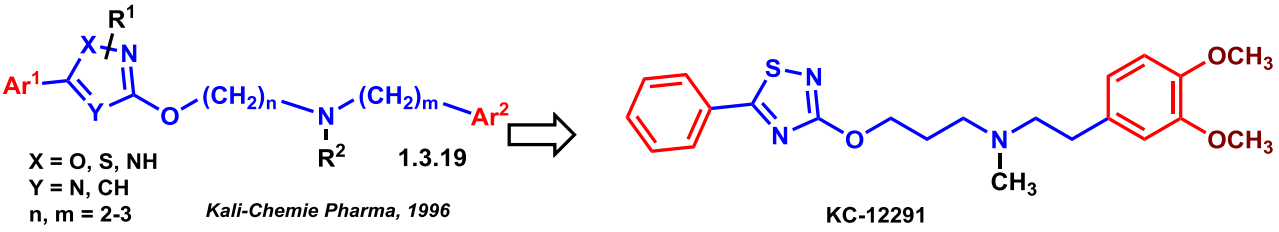


Рисунок 55. Создание KC-12291

В последующих работах было описано лидерное вещество из вышеуказанной серии KC-12291. Было обнаружено, что KC-12291 оказывает умеренное ингибирующее действие на пиковый ток Na^+ и заметно снижает медленный ток Na^+. В изолированных желудочковых миоцитов морской свинки KC 12291 (10 мкМ) достоверно снижал амплитуду быстрого Na^+-тока на 38,2% и амплитуду медленного Na^+-тока на 35% [259, 260].

В 2008 г. Ле Гран и соавторы разработали группу миметиков трипептида IFM (изолейцин-фенилаланин-метионин) на основе бензоксатиепинового гетероцикла с целью создания селективных блокаторов Nav1.5. Аминокислоты IFM расположены в III-IV внутренней петле Na^+ канала и играют существенную роль в закрытии канала. Авторы предположили, что резкое усиление позднего натриевого тока при ишемии связано с его неполной быстрой инактивацией из-за затруднения стыковки мотива IFM в месте его связывания внутри поры канала [261]. Это предположение было основано на данных о том, что экзогенные IFM-содержащие пептиды могут восстанавливать быстрое открытие каналов, перешедших в режим медленной инактивации [262].

Дизайн низкоэнергетического конформера миметика IFM с использованием структурных элементов ранолазина привел к созданию производных 3-амино-1,5-бензоксатиепина **1.3.20** с цепью, близкой к прототипу (рис. 56). Оптимизация молекулы в последствие привела к получению лидерного соединения F15845. Было показано, что

F15845 избирательно ингибирует постоянный ток натрия Nav1.5, оказывая кардиопротекторное действие после ишемии [263].

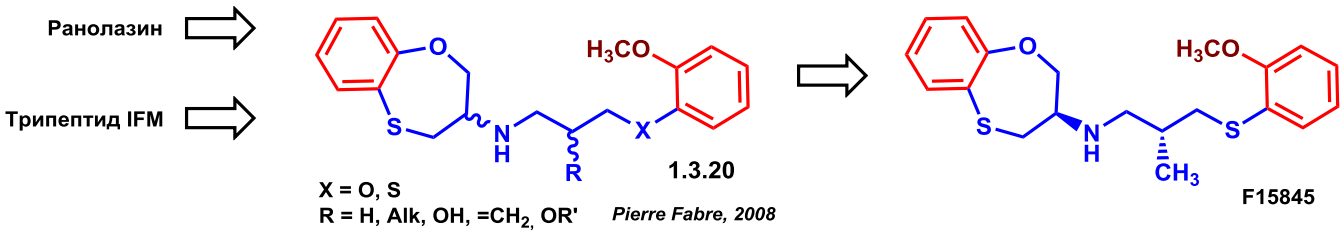


Рисунок 56. Дизайн F15845 и его группы

В середине 2010-х годов исследователи из Gilead Sciences развивали программу по поиску ингибиторов позднего натриевого тока в ряду гетероциклических биароматических соединений. Первоначально Колтун и соавт. провели скрининг библиотеки собственных гетероциклических соединений различных подклассов на предмет их ингибирующей активности в отношении позднего тока I_{Na} с использованием автоматической пэтч-кламп системы. Последовавшие за этим усилия привели к открытию триазолопиридина **GS-458967** (IC_{50} 333 нМ), который, как было обнаружено, имеет хорошую селективность по способности блокировать поздний I_{Na} ток в сравнении с быстрым током натрия (рис. 57) [264].

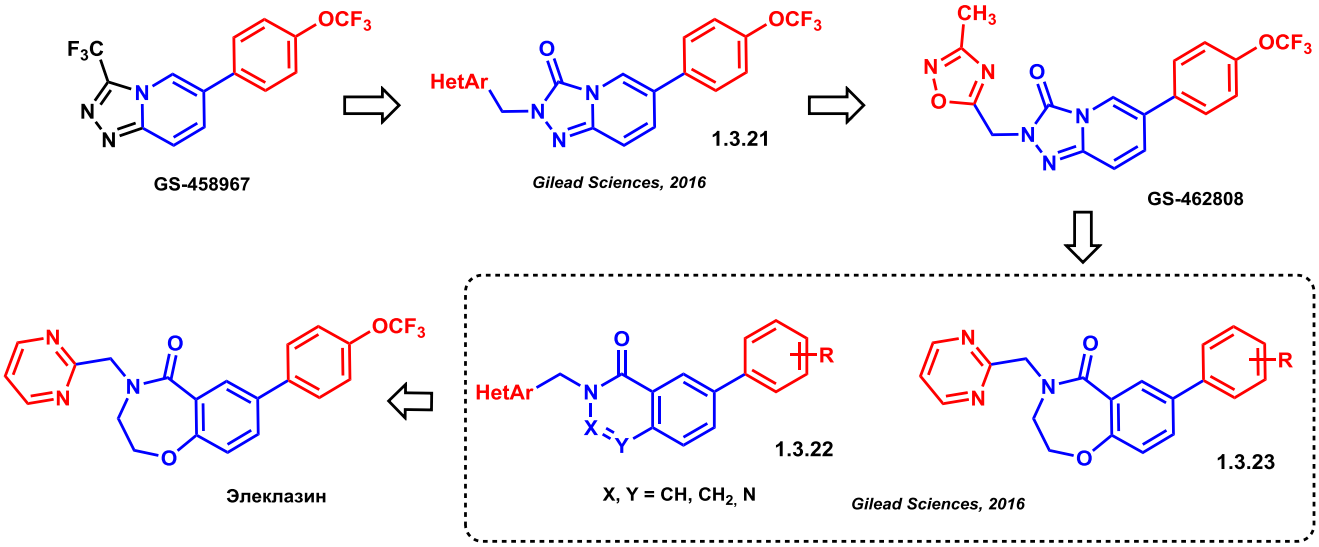


Рисунок 57. Ингибиторы позднего натриевого тока, созданные в Gilead Sciences Inc.

В следующей публикации авторы увеличили площадь полярной поверхности молекулы с 50 до ~80 Å, добавив к ядру карбонильную группу и пятичленное полярное гетероциклическое кольцо, в результате чего была получена группа соединений **1.3.21**. Наиболее привлекательным соединением из новой группы оказалось GS-462808 с оксадиазольным кольцом (IC_{50}(поздний Nav1.5) 1.33 мкМ), которое имело наилучшие общие свойства в отношении быстрого тока I_{Na} и Nav1.1 [265].

Дальнейший поиск селективных ингибиторов позднего натриевого тока в Gilead Sciences был проведен в серии аналогов GS-462808 **1.3.22** и **1.3.23** с шестичленными и семичленными лактамами, соединенными с центральным бензольным кольцом. Установлено, что сродство к позднему I_{Na} более выражено у соединений с насыщенным лактамным циклом и в большей степени у производных оксазепинона. Оптимальными гетероциклическими заместителями являются пиридин или пиримидин. Пара-трифторметоксигруппа во втором ароматическом кольце также играет существенную роль в сродстве молекул.

Элеклазин (GS-6615; значения IC_{50} 0.62 и 51 μM в отношении блокады $I_{Na,late}$ и $I_{Na,early}$, соответственно, в пэтч-клампом экспериментах), содержащий трифторметоксифенильную и пиримидиновую группы в качестве ароматических фармакофоров, был выбран на основании анализа связи «структура-активность». Элеклазин обеспечивает 100%-е ингибирование позднего тока I_{Na} при 1 мкМ, обладает 10-кратной селективностью по сравнению с hERG, не ингибирует β-рецепторы при 10 мкМ [266]. Среди селективных ингибиторов позднего тока I_{Na} элеклазин был единственным кандидатом в лекарственные средства, помимо ранолазина, который прошел клинические испытания фазы III.

Выводы по блокаторам натриевых каналов

Анализ структур биароматических соединений со свойствами блокаторов Na^+-каналов позволяет выделить следующие общие характеристики этих молекул (рис. 58). Одна из ароматических групп содержит заместитель с неподеленной парой (LPD), чаще всего метоксигруппу, а также трифторметоксигруппу или атом галогена. Второй ароматический заместитель может содержать гетероатомы. Линкер обычно содержит объемную группу, которая может располагаться как в центральной части линкера, так и рядом с ароматическим заместителем (обычно это кольцо, содержащее гетероатомы). Также следует отметить, что линкер, связывающий ароматические группы, содержит достаточно большое количество гетероатомов (около трех: X, Y, Z в модели), таких как азот, сера или кислород, длина линкера составляет около 9-11 связей.

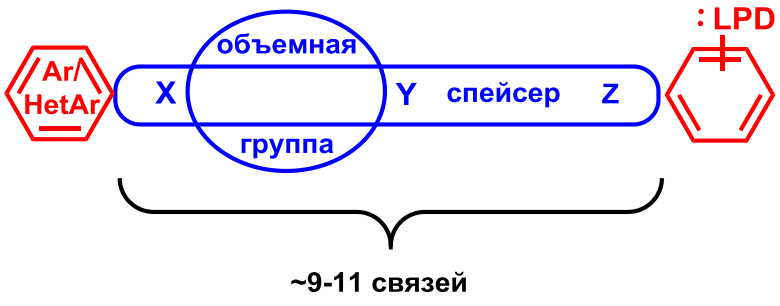


Рисунок 58. Модель блокаторов потенциал-зависимых натриевых каналов

1.4.4. Блокаторы калиевых hERG-каналов

hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) – это ген (*KCNH2*), который кодирует белок, известный как Kv11.1, альфа-субъединицу калиевого ионного канала. Этот ионный канал (обозначаемый как «hERG») наиболее известен своим вкладом в электрическую активность сердца: канал hERG опосредует реполяризующий ток I_{Kr} в потенциале сердечного действия, который обладает координирующим влиянием на ЧСС [267].

I_{Kr} вносит большой вклад в фазу реполяризации сердечного потенциала действия (ПД), эффективно контролируя длительность ПД (ДПД) и интервал QT, наблюдаемый на электрокардиограммах. Эта сердечная функция hERG является свойством его уникальных характеристик ворот: подобно другим чувствительным к напряжению K^+ каналам, hERG открывается после деполяризации мембраны в результате зависимых от напряжения ответов его сенсорного домена напряжения; однако канал почти сразу инактивируется, ограничивая прохождение K^+ до начала фазы реполяризации ПД. В дополнение к быстрому началу и восстановлению после инактивации hERG деактивируется очень медленно, так что внешний K^+-ток проходит даже тогда, когда мембранный потенциал возвращается к потенциалу покоя. Это значимо поддерживает эффективную реполяризацию ПД сердца. Кинетика ворот hERG также позволяет каналу генерировать быстрые транзиторные токи в конце реполяризации ПД/начале диастолы для защиты от аритмогенной преждевременной деполяризации. Кроме того, кинетика дезактивации канала позволяет I_{Kr} влиять на диастолическую деполяризацию пейсмейкерных клеток [268].

Блокаторы каналов hERG исторически относятся к III классу антиаритмических средств по классификации Vaughan Williams и к IIIa классу по современной классификации Lei [245]. Многие из них уже много лет используются в качестве кардиопротекторных средств. В серии БСЛ создано значительное количество блокаторов каналов hERG.

В 1987 г. исследователи из Pfizer запатентовали группу бис(арилалкил)аминов **1.3.24**, содержащих *п*-метилсульфониламидную группу по крайней мере в одном из ароматических колец (рис. 59). Эта группа была получена при поиске антиаритмических средств III класса в ряду производных соталола [269]. Соединения новой группы удлиняли ПД сердца без существенного изменения максимальной скорости деполяризации. Было обнаружено, что особенно предпочтительным структурным признаком является наличие метансульфонамидного фрагмента на обоих арильных кольцах. Среди этих соединений наиболее активным оказалось соединение дофителид с линейным линкером длиной 7 связей, содержащим атомы азота и кислорода. Замена атома кислорода в линкере на атом

серы или метиленовое звено не оказывало существенного влияния на активность, но увеличение длины цепи приводило к ее снижению.

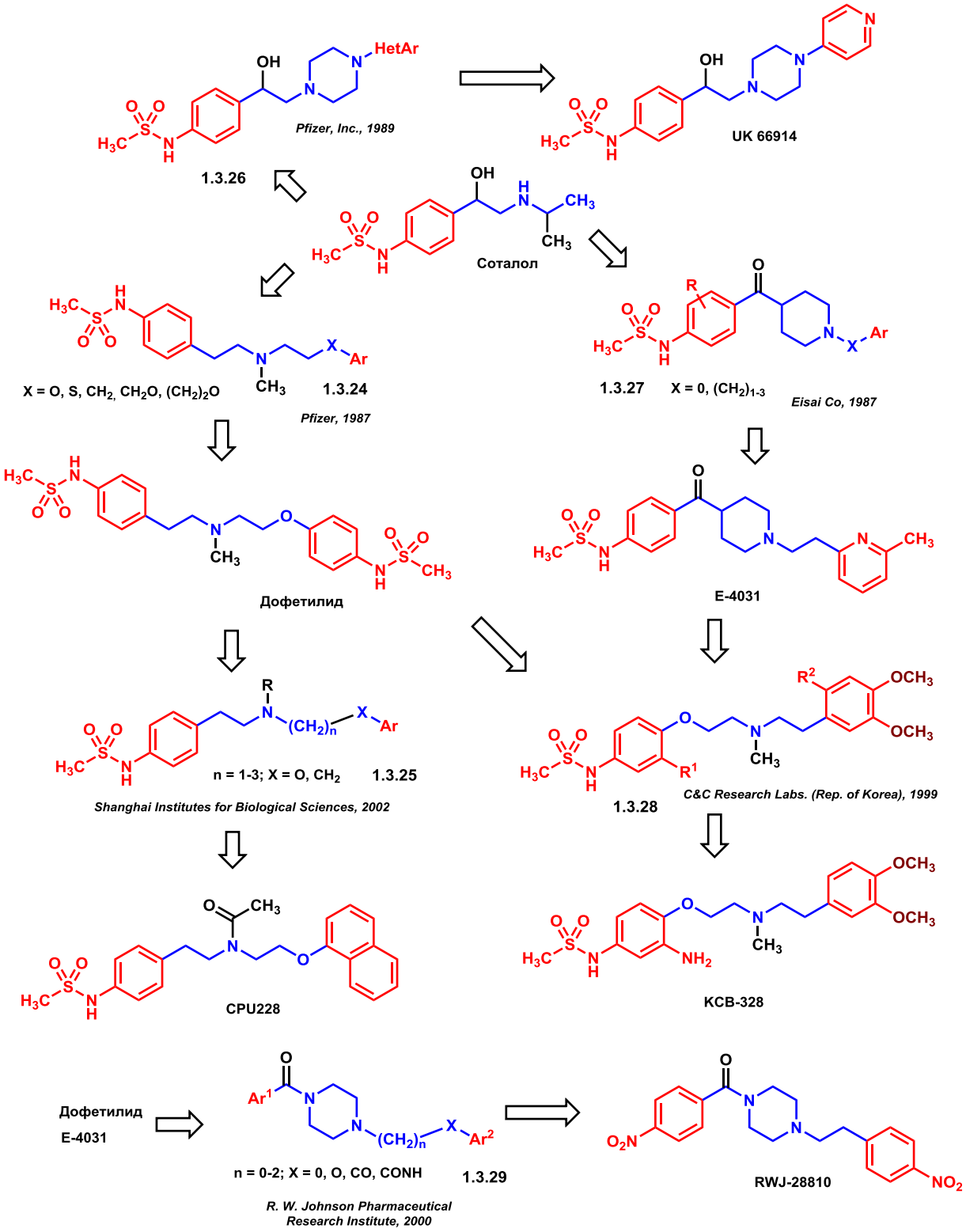


Рисунок 59. Разработка биароматических hERG-блокаторов на основе структуры соталола

В изолированных папиллярных мышцах морских свинок дофителид вызывал дозозависимое удлинение эффективного рефрактерного периода (ЭРП) при концентрации от $5*10^{-9}$ М и выше [270]. При измерении методом пэтч-кламп в клетках HEK293 дофетилид блокировал каналы hERG с IC50 7 нМ [271]. Дофетилид был одобрен FDA в

1999 г. для купирования ФП и трепетания предсердий (ТП) и поддержания синусового ритма у пациентов с ФП и ТП. Наиболее серьезным побочным эффектом терапии дофетилидом является TdP [272].

В 2002 г. Liu и соавт. С использованием дофетилида в качестве прототипа антиаритмического средства III класса и 3D-QSAR моделей сконструировали и синтезировали его новые метилсульфонамидофенилэтиламиновые аналоги **1.3.25**. В этих соединениях *n*-метилсульфониламинофенилэтиловый фрагмент остался неизменным, а структуру второй ароматической группы и длину линкера варьировали. Фармакологический анализ показал, что все соединения **1.3.25** проявляли активность в отношении увеличения ЭРП в изолированном предсердии животных. Наиболее активным было соединением CPU228 [273] [274].

Другой группой производных соталола, разработанных в Pfizer, являются соединения **1.3.26**, содержащие пиперазиновый фрагмент в линкере, связанном с гетероароматической группой. Как и в соталоле, одним из заместителей в линкере была гидроксильная группа. Наиболее интересным соединением оказалось соединение UK-66914 с пиридиновым гетероциклом. Это соединение вызывало увеличение ЭРП желудочков, при этом относительный порядок активности UK-66914 был намного выше, чем у d-соталола [275, 276]. В концентрациях 0.3-1 мкМ UK-66914 снижал частоту реперфузионно-индуцированной ФЖ у кроликов с 77% в контроле до 38% и 31% соответственно [277].

Параллельно с созданием химической серии дофетилида и его аналогов компания Eisai вела работы по дизайну других биароматических производных соталола **1.3.27**, также содержащих *n*-метилсульфониламинофенильный фармакофор. В отличие от соединений Pfizer, эта группа включала циклический пипиридиновый фрагмент и карбонильную группу в линкере. Соединения новой группы удлиняли продолжительность ПД в изолированном миокарде морских свинок и вызывали удлинение QTc-интервала ЭКГ у наркотизированных собак [278]. Для дальнейшей разработки было выбрано соединение E-4031, в котором вторая ароматическая группа представляет собой метилпиридин, а длина линкера составляет 8 связей. Было обнаружено, что это соединение является мощным агентом III класса (IC_{50} (hERG) = 397 нМ) [279].

Kim и др. описали группу соединений **1.3.28**, разработанных на основе дофетилида и соединения E-4031. При этом в молекулы был введен 3,4-диметоксифенетиламиновый фрагмент. Антиаритмические эффекты III класса оценивали по пролонгации ЭРП в изолированных папиллярных мышцах морской свинки. Соединение KCB-328 с длиной линкера 7 связей и содержащее дополнительную аминогруппу в основном фенильном

кольце показало наиболее выраженное удлинение ЭРП [280]. Kanojia с соавторами из Научно-исследовательского фармацевтического института Р. В. Джонсона (США) на основе структур дофетилида и Е-4031 сконструировали новую группу **1.3.29**. Линкер в этих соединениях включал пиперазиновое кольцо и карбонильную группу. Среди нескольких активных соединений, идентифицированных в серии, RWJ-28810 с EC_{20} 3 нМ считается одним из наиболее сильнодействующих (*in vitro*) hERG-блокаторов, известных в литературе [281].

Hong и др. в 1999 г. синтезировали ряд производных дофетилида **1.3.30**, замещенных у центрального атома азота в линкере (рис. 60). Новые соединения проявляли антиаритмическую активность у крыс, подобную активности дофетилида, в модели аритмии, вызванной аконитином [282]. Наиболее активным соединением было DC031050 с бензильным заместителем, которое ингибировало токи hERG со значением IC_{50} 2.3 нМ [283].

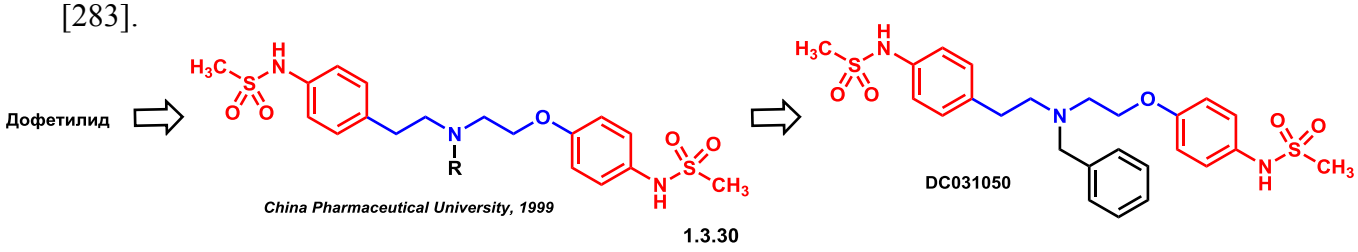


Рисунок 60. Конструирование соединения DC031050

Исследователи компании BASF в первой половине 1980-х годов на основании предварительных данных об активности некоторых производных биспидина создали соединение амбасилид, проявившее мощное антиаритмическое действие на изолированные предсердия морской свинки (рис. 61) [284]. Амбасилид ингибировал каналы hERG с IC_{50} 3.6 мкМ [285]. Позднее было обнаружено, что амбасилид способен блокировать множественные сердечные каналы у различных животных и человека. Вероятно, это связано со значительными отклонениями в структуре молекулы по сравнению с другими блокаторами hERG.

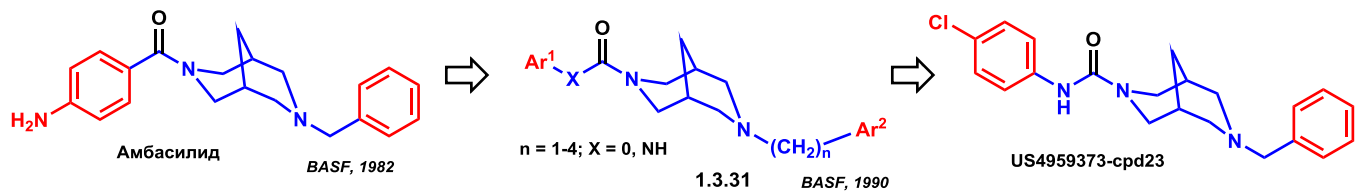


Рисунок 61. Амбасилид и его производные

Позднее в этой же компании был запатентован ряд производных амбасилида **1.3.31**, отличающихся длиной линкера и строением ароматических фармакофоров. Одно из наиболее активных соединений US4959373-cpd23 с атомом хлора в фенильном кольце и с

дополнительным азотом в линкере проявляло наибольшую активность в удлинении интервала QT [286].

В 1992 г. Katakami и соавт. Сконструировали группу соединений **1.3.32** в качестве антиаритмиков III класса на основе структуры β-блокатора MS-3579 (рис. 62). В соединении MS-3579 был модифицирован 1,2-дигидрокси-3-пропанаминовый фрагмент, характерный для β-блокаторов, а в ароматических циклах были использованы заместители, характерные для антиаритмических средств III класса: нитрогруппа, галогены или метилсульфониламидная группа. В качестве второго ароматического фармакофора использовали фрагмент пиримидиндиона. Среди полученных соединений подтверждена активность, характерная для антиаритмических средств III класса [287]. Нифекалант был одним из самых эффективных соединений этой серии с pKi (hERG) = 5.0; впоследствии он успешно прошел клинические испытания.

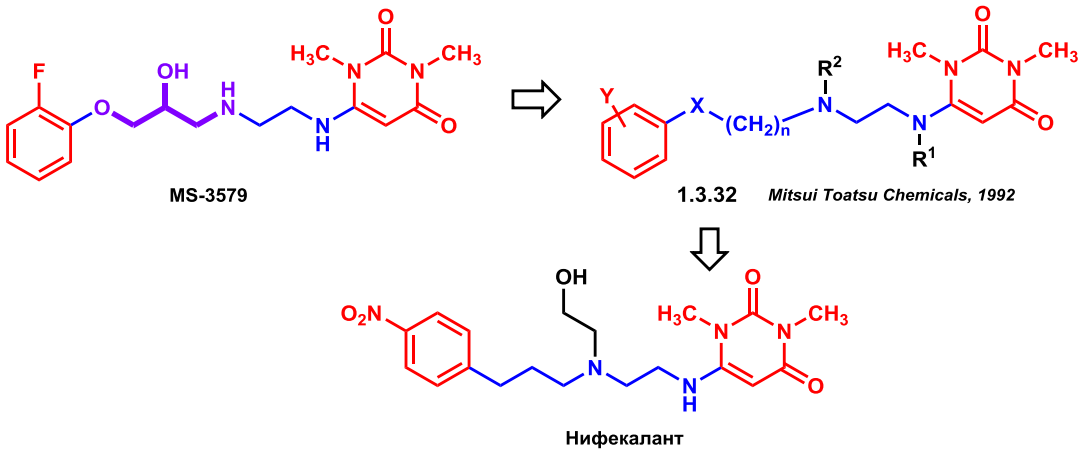


Рисунок 62. Дизайн препарата нифекалант

В 1990 г. Hardy и соавт. запатентовали группу производных бензопирана **1.3.33**, созданных на основе 4-аминометилбензопиранов, обладающих гипотензивным и миорелаксантным действием (рис. 63). Новые соединения показали хорошие антиаритмические и антифибрилляционные свойства, характерные для антиаритмиков III класса по Vaughan William, что выражалось в удлинении рефрактерных периодов [288].

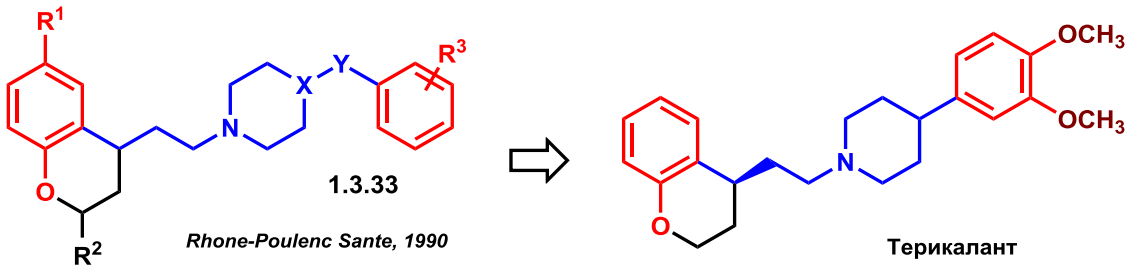


Рисунок 63. Терикалант и его группа

Терикалант с незамещенным бензопирановым кольцом и с 3,4-диметоксифенильной группой в качестве второго ароматического фрагмента из этой группы получил дальнейшее развитие. Это соединение дозозависимо удлиняло

длительность ПД предсердий и желудочков в нормальной сердечной ткани. Активность терикаланта по блокированию калиевых каналов hERG была очень высока (pIC_{50} = 7.51) [289]. В дополнение к основному блокирующему действию hERG в литературе также содержится информация о способности терикаланта блокировать быстрые натриевые каналы. Это наблюдение хорошо согласуется со структурой фармакофора этого препарата [290].

В 1992 г. Elliott и соавторы создали группу производных 4-оксоспиро[бензопиран-2,4'-пиперидина] **1.3.34** на основании структурной информации об антиаритмических средствах III класса, содержащих метилсульфониламидную группу (соталол, сематилид, Е- 4031, ибутилид, дофетилид и др.) (рис. 64). В изолированных папиллярных мышцах хорька эти соединения значительно продлевают ЭРП и вызывают умеренный положительный инотропный эффект [291]. Наиболее активным соединением оказалось L 691121 с бензооксодиазольным кольцом в качестве второго ароматического кольца. Он удлинял ЭРП с EC_{25} = 13 нМ [292].

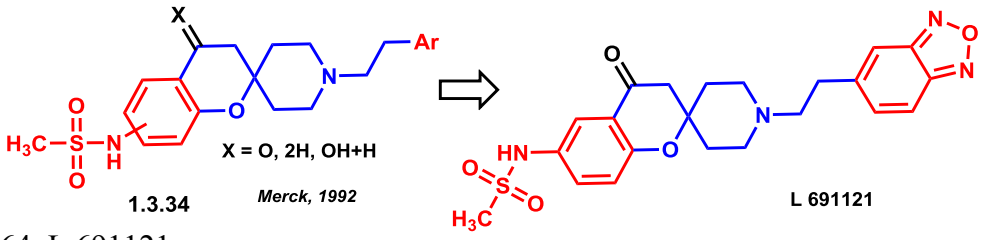


Рисунок 64. L 691121 и его группа

Заключение по блокаторам hERG

Данные литературы свидетельствуют о том, что большое количество БСЛ относится к классу блокаторов hERG, в том числе и клинически эффективный препарат дофителид. Обобщение структурных данных для этого подкласса соединений позволяет выявить следующую модель фармакофора (рис. 65). Одна из ароматических групп в этой модели чаще всего содержит метилсульфонильную группу, реже нитрогруппу или атом галогена. Это ароматическое ядро чаще всего связано с гетероатомом или группой, содержащей гетероатом с двумя парами электронов. Эта группа связана через два мостиковых фрагмента со второй ароматической группой. Между мостиками всегда находится третичный атом азота, содержащий либо небольшой заместитель, либо один из циклических мостиков. Сами мостики чаще всего представляют собой линейные или циклические алифатические фрагменты. Общая длина линкера, соединяющего две ароматические группы, обычно составляет 7-10 связей. Вторая ароматическая группа может быть свободной и содержать более разнообразные заместители: как электронодонорные, так и электроноакцепторные.

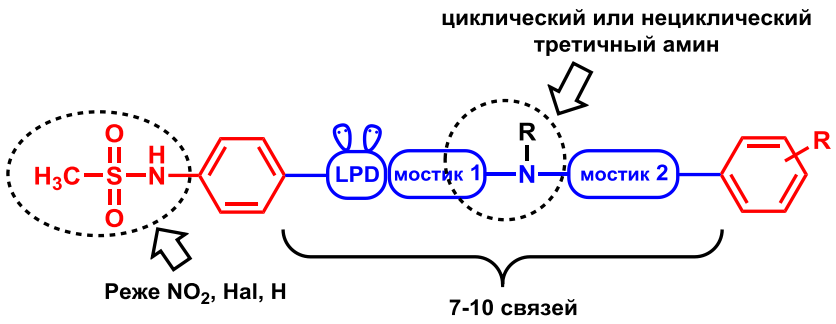


Рисунок 65. Модель hERG-блокаторов

1.4.5. Бета-адреноблокаторы

β-Адренорецепторы (β-АР) представляют собой класс рецепторов, связанных с G-белком, которые опосредуют сердечно-сосудистую функцию, вызванную активацией симпатической нервной системы при связывании лигандов этих рецепторов – катехоламинов. В сердечной ткани преобладающими АР являются β1-АР, которые играют важнейшую роль в регуляции функции сердца [293]. Хотя опосредованная катехоламинами передача сигналов β-АР важна для нормальной сердечной функции, а сниженная экспрессия β-АР наблюдается при сердечной недостаточности, лечение антагонистами β-АР (β-блокаторами) по-прежнему считается золотым стандартом лечения хронической сердечной недостаточности (ХСН). Одна из гипотез состоит в том, что снижение количества β-АР при ХСН фактически предотвращает гиперстимуляцию сердца избытком катехоламинов. Кроме того, β-адреноблокаторы обладают антиаритмическим действием и предотвращают гипертрофию, апоптоз и некроз миокарда, вызванные гиперстимуляцией β1-АР. Другим важным механизмом действия β-блокаторов может быть повторная сенсибилизация передачи сигналов β-АР в кардиомиоцитах. Было обнаружено, что β-блокаторы вызывают ресенсибилизацию за счет увеличения экспрессии β-АР, особенно β1-АР, и снижения уровня ингибирующего G-белка в пораженном сердце человека [294].

β-Адреноблокаторы — один из старейших классов кардиопротекторов, применяемых при лечении сердечно-сосудистых заболеваний. Первым β-блокатором, появившимся на рынке, был пропранолол. Он был открыт и охарактеризован Блэком и его коллегами из Фармацевтического отдела ICI в 1964 г. Следует сразу отметить, что как для пропранолола, так и для подавляющего большинства других β-блокаторов ключевым структурным элементом в их молекулах является 1,2-дигидрокси-3-аминопропановый фрагмент, замещенный по внешней ОН-группе и атому азота. В дальнейшем описании для наглядности этот фрагмент выделен в структурах фиолетовым цветом [295].

Важно отметить, что существенной характеристикой β-блокаторов кардиотропных препаратов является их селективность в отношении β1-АР. Нежелательная блокада β2

может вызвать опасный для жизни бронхоспазм и снизить эффективность экстренной неотложной терапии агонистами β2. Таким образом, неселективные продлевающие жизнь β-адреноблокаторы противопоказаны пациентам как с заболеваниями сердца, так и с астмой. Поэтому в более поздних работах по поиску β-адреноблокаторов значительное внимание уделяется их β1-селективности [296].

Анализ литературных данных по известным на сегодняшний день β-блокаторам с кардиопротекторными свойствами показывает, что многие из них относятся к ряду БСЛ.

Поиски β-блокаторов среди БСЛ начались всего через несколько лет после открытия пропранолола. Еще в 1970 г. Howe с соавторами опубликовали результаты исследования производных 1,4-бензодиоксана и 2-хромана **1.3.35**, разработанных как структурные аналоги пропранолола (рис. 66). Среди этих соединений был идентифицирован самый мощный на тот момент β-блокатор Howe-16, который оказался в десять раз более мощным, чем пропранолол. Замена *трет*-бутильного заместителя в Howe-16 различными фрагментами, содержащими фенильное кольцо, привела к биароматическим производным, таким как Howe-24 и Howe-26, которые также обладали высоким потенциалом. Перечисленные соединения подавляли тахикардию на 64, 45 и 45% в концентрациях 0.5 (Howe-16), 20 (Howe-24), и 2.5 (Howe-26) мкг/кг/мин, соответственно [297].

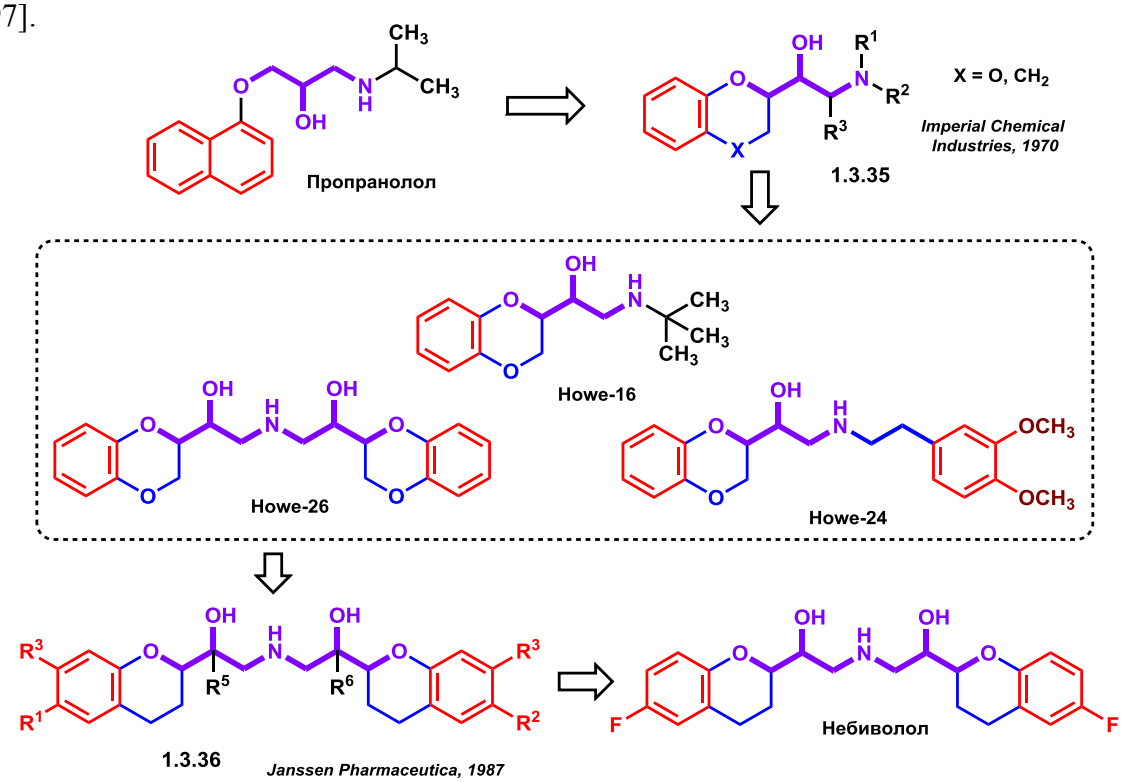


Рисунок 66. Дизайн небиволола и его аналогов

Используя эти данные, исследователи из Janssen Pharmaceutica в 1987 г. исследовали и запатентовали группу симметричных 2,2'-азандиил-бис[1-(хроман-2-

ил)этан-1-олов] **1.3.36**. Почти все соединения из этой группы показали отличные характеристики связывания с β1-рецептором и селективность в отношении рецептора β2 [298]. Небиволол, содержащий атомы фтора в качестве заместителя в ароматических группах, и обладающий высоким сродством к β1-АР (A_2 = 5.8*10^{-9} М) и селективностью по отношению к рецептору β2 (A_2 = 1.7*10^{-6} М) был выбран в качестве ведущего соединения для разработки. Интересно отметить, что как в структуре небиволола, так и во всем ряду его аналогов ключевой фрагмент β-адреноблокаторов дублируется в виде 3,3'-иминодипропан-1,2-диола. Общая длина линкера, связывающего ароматические группы, составляет 10 связей [299]. Кардиопротекторные свойства небиволола как β-адреноблокатора были тщательно изучены и подтверждены в экспериментах на животных. [300].

Эффективность небиволола была успешно подтверждена в клинических испытаниях у пациентов с артериальной гипертензией, стенокардией и ХСН [301]. Небиволол начал применяться в медицине в Европе в 1997 г., а после одобрения FDA в 2007 г вышел на рынок США для лечения артериальной гипертензии [302].

В 1973 году исследователи из Pfizer опубликовали результаты исследований группы биароматических производных 3-((2-гидроксиэтил)амино)пропан-1,2-диола **1.3.37**, разработанных как потенциально β1-селективные аналоги практолола, в которых изопропиловый заместитель у атома азота был заменен на *О*-арилоксоэтильный фрагмент (рис. 67). Наилучшие результаты в ингибировании β1-АР показали соединения, содержащие метильную или метоксигруппу в ароматическом кольце, связанном с 1,2-дигидрокси-3-аминопропановым фармакофором и карбамоильную группу во втором ароматическом цикле.

Наиболее активным соединением оказался толамолол, обладающий селективностью в отношении рецепторов миокарда (β1) по сравнению с рецепторами периферических сосудов (β2) у человека (IC_{50}(β1) = 1.2 мкМ; IC_{50}(β2) = 3.6 мкМ). Левоэнантиомер толамолола был значительно более активным, чем правоэнантиомер (IC_{50} (β1) = 0.37 мкМ против IC_{50}(β2) = 7.6 мкМ) в соответствии с результатами для других оптически-активных блокаторов β1-АР, например, пропранолола и алпренолола. Толамолол проходил клинические исследования как потенциальное антиангинально-антиаритмическое средство [303].

Используя анализ связи «структура-активность» в ряде соединений, опубликованных Pfizer, Hoefle с соавторами предложили группу производных 1-(ариламино)-3-арилокси-2-пропанола **1.3.38** для повышения кардиоселективности соответствующих молекул. Вместо *О*-арил-оксоэтильной группы исследователи

использовали более простую арил-этильную группу. Исследование показало, что 3,4-диметоксифенетильная аминогруппа (NH-CH_2-CH_2-Ar) оказалась уникальной в этой серии, так как придавала кардиоселективность β-блокирующей активности (модель морской свинки *in vitro*). Соединение бевантолол было определено (K_B(β1) = 1.4*10^{-8}; K_B(β2) = 3.6*10^{-7}) как наиболее многообещающий лекарственный кандидат на основании эффективности, избирательности действия и минимума побочных эффектов [304].

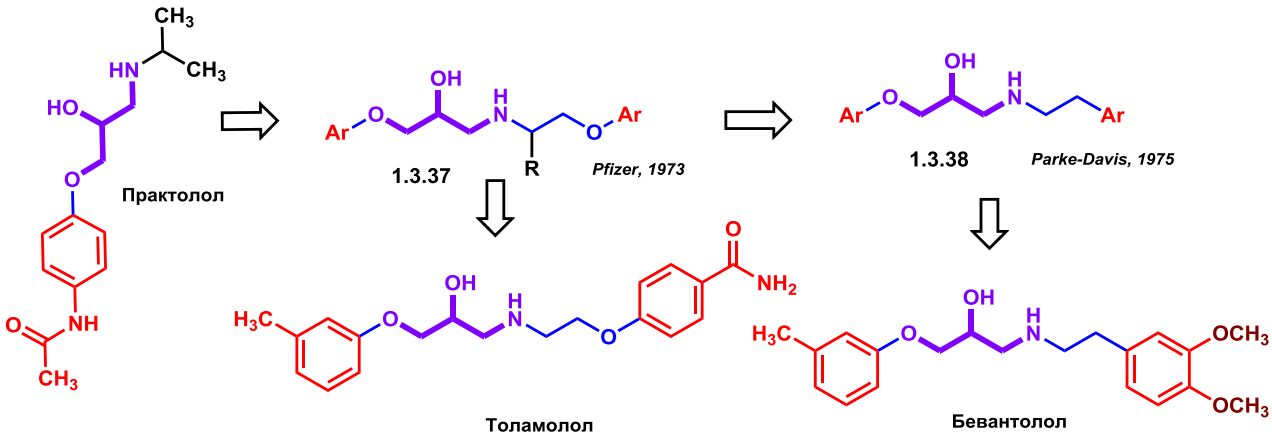


Рисунок 67. Конструирование толамолола и бевантолола

Kreighbaum и соавт. В 1980 г. опубликовали группу соединений **1.3.39**, сконструированных на основе имеющихся в то время данных, в качестве антагонистов β-АР в сочетании с сосудорасширяющей активностью (рис. 68). Эта группа по структуре напоминает ранее упомянутую серию БСЛ с β-блокирующей активностью, однако в данном случае в качестве одного из арильных фармакофоров использовался индольный гетероцикл. Кроме того, этиленовый мостик, связывающий индольное кольцо с 1,2-дигидрокси-3-аминопропановым фармакофором, содержит две метильные группы. Наибольшую эффективность в сочетании β-блокирующей и антигипертензивной активности среди исследованных соединений показали структуры, содержащие заместители в *O*-фенильном кольце во 2-м положении (метильную, трифторметильную или цианогруппу).

Для дальнейшей разработки выбрано соединение буциндолол с 2-цианогруппой в фенильном кольце [305]. Используя конкурентное связывание антагониста [^{125}I]йодоцианопиндолола, было показано, что буциндолол обладает таким же сродством к желудочковым β-рецепторам человека, как и пропранолол (K_i = 3.7 * 10^{-9} M) [306].

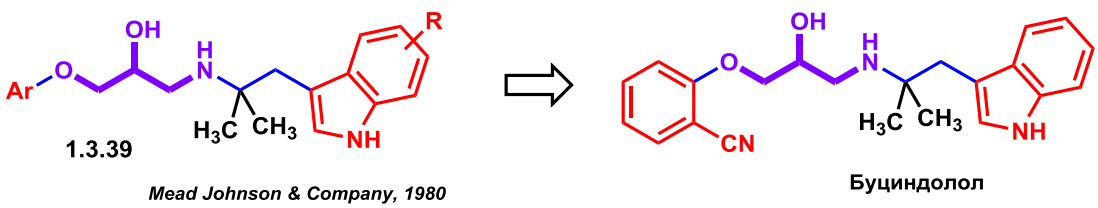


Рисунок 68. Буциндолол и его группа

В 1985 г. компания Boehringer получила патент на группу карбазолсодержащих соединений **1.3.40**, соответствующих по строению известным в то время биароматическим β-блокаторам (рис. 69). Карбозольный гетероцикл в этих соединениях напрямую связан с фармакофором 1,2-дигидрокси-3-аминопропана. Второй ароматический заместитель, обычно монозамещенное фенильное кольцо, связан с центральным атомом азота оксиэтильным мостиком. Ингибирование изопреналиновой тахикардии принимали за меру β-блокирующей активности испытуемых соединений. Наилучшие результаты показал карведилол с *о*-метоксифенильной группой [307].

Исследования механизма действия карведилола показывают, что это соединение является мощным конкурентным антагонистом β1- и β2-АР с K_B 0.9 нМ для обоих подтипов β-АР [308].

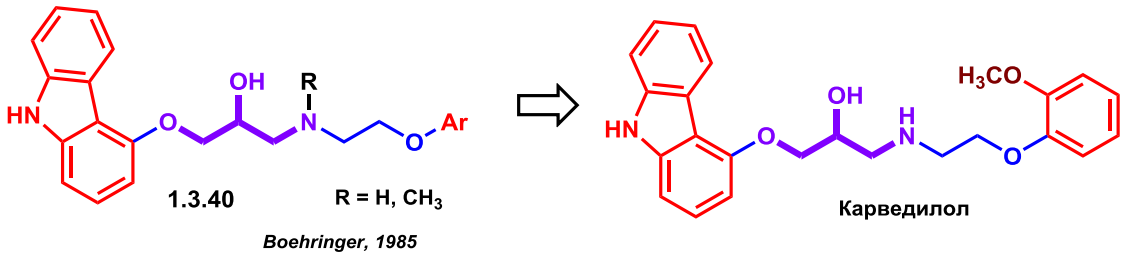


Рисунок 69. Карведилол и его группа

Данные клинических исследований убедительно показали, что карведилол оказывает значительное антигипертензивное действие у пациентов с гипертонической болезнью легкой и средней степени тяжести. Также он снижает смертность и количество госпитализаций у пациентов с ХСН [309]. В мае 1997 года карведилол был одобрен для применения у пациентов с ХСН в США [310].

В первой половине 1980-х годов исследователи корпорации Ciba-Geigy создали группу потенциальных кардиопротекторов **1.3.41**, относящихся к группе БСЛ (рис. 70). При этом линкер имел достаточно универсальную для таких β-блокаторов структуру, а *О*-арильная группа была замещена дополнительным ароматическим или гетероароматическим фрагментом. Во второй ароматической группе в качестве заместителей использовали группу ОН и свободную или замещенную карбамоильную группу. [311].

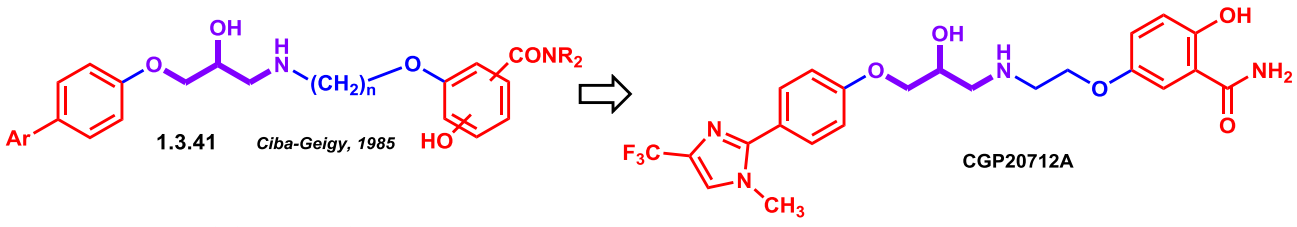


Рисунок 70. CGP20712A и его группа

Соединение CGP20712A, содержащее метил-трифторметил-имидазол в качестве гетероциклического заместителя и имеющее длину линкера 9 связей, было выбрано из этой серии в классическом скрининговом анализе. Это соединение было специфическим антагонистом β1-AP, лишенным внутренней симпатомиметической активности и мембраностабилизирующих свойств [312]. В радиолигандном анализе с использованием клеток человека CGP20712A имел pK_D = 8.76 (β1-AP человека) и pK_D = 5.62 (β2-AP человека) с селективностью β1/β2 = 1380 [296].

Заключение по β-блокаторам

Среди соединений, обладающих β-блокирующей активностью, идентифицировано значительное количество структур, относящихся к классу БСЛ. Некоторые из этих соединений являются клинически эффективными кардиопротекторными средствами, которые успешно применяются по сей день (небиволол, карведилол).

Анализ структур неселективных β-блокаторов или β1-блокаторов с низкой селективностью из класса БСЛ выявляет следующую модель этих структур (рис. 71). Ключевым компонентом линкера является 1,2-дигидрокси-3-аминопропановый фрагмент. Через атом кислорода он связывается с первой ароматической группой. Вторая ароматическая группа связана с атомом азота фармакофора 1,2-дигидрокси-3-аминопропана мостиком из 3-5 связей, который представляет собой алкильную цепь, часто содержащую один гетероатом. Небольшие заместители, такие как метокси, циано, метильная группа или атом галогена, часто присутствуют в ароматических фармакофоре соединений.

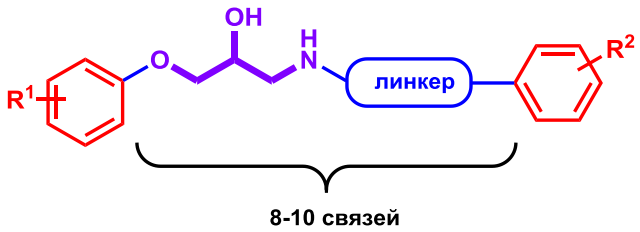


Рисунок 71. Обобщенная модель β-блокаторов

1.4.6. БСЛ с другими механизмами действия

В рассмотренных выше группах соединения со структурой БСЛ представлены наиболее широко. Однако среди БСЛ имеется большое количество веществ с другими механизмами действия или их направленными комбинациями, включая недавно выявленные биомишени, рассматривающиеся как перспективные для целей кардиопротекции. В данном разделе кратко представлены лишь некоторые примеры таких разработок (рис. 72). Более подробно БСЛ с различными типами механизмов действия описаны в обзоре автора настоящего исследования [313].

Соединение КТ-362 является эффективным блокатором рианодиновых рецепторов (RyR), которые являются основными каналами высвобождения Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме (СР) кардиомиоцитов [314]. Было показано, что К201 блокирует внутриклеточный Ca^{2+}, а также предотвращал аномальную утечку Ca2+ из СР в ишемизированном сердце и скелетных мышцах, стабилизируя RyR1 и RyR2 [315]. Ряд исследований показал, что К201 обладает кардиопротекторными и антиаритмическими свойствами у животных [316, 317].

В группе блокаторов Kv1.5, эффективных при контроле предсердных аритмий и лишенных неблагоприятных желудочковых эффектов было выявлено соединение KVI-020 с высокую аффинностью к Kv1.5 (IC_{50} = 480 нМ). Эффективность KVI-020 по увеличению предсердного ЭРП без влияния на желудочковый ЭРП была подтверждена в нескольких моделях *in vivo* [318].

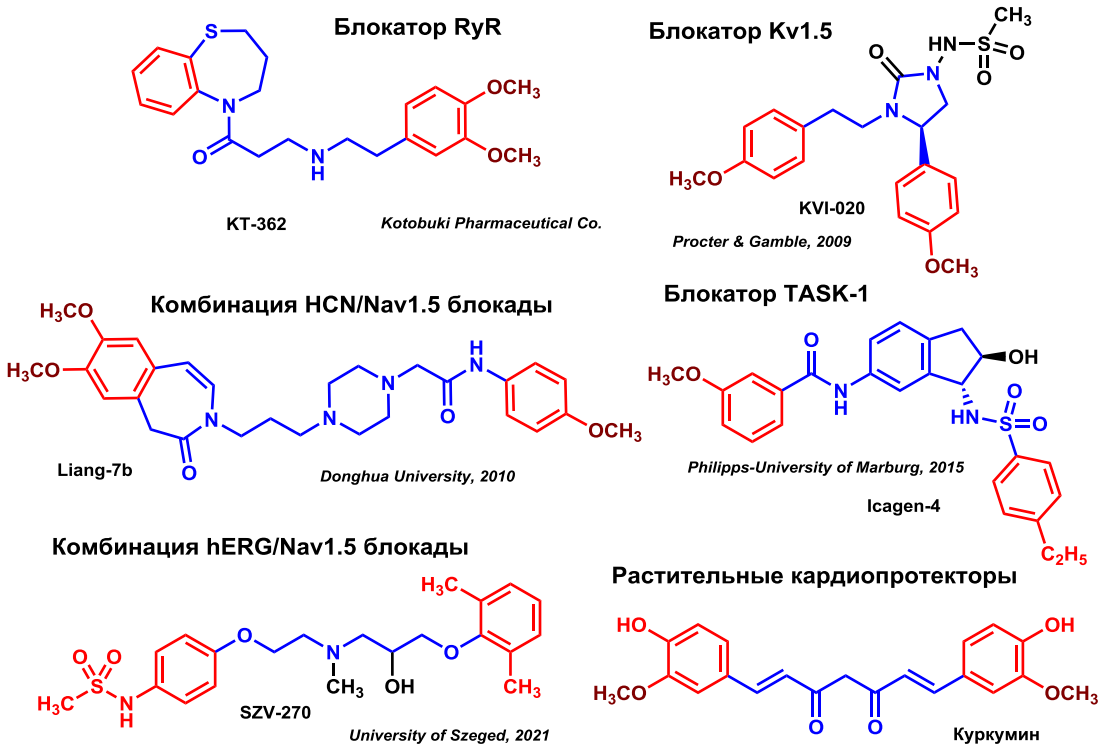


Рисунок 72. Примеры БСЛ с различными механизмами действия

Комбинацией фармакофорных элементов HCN-блокатора ивабрадина и блокатора Nav1.5 ранолазина было создано соединение Liang-7b, сочетающее биологические свойства обоих классов: сосудорасширяющую и брадикардическую активность [319]. Сочетанием ключевых групп hERG-блокатора дофетилида и блокатора натриевых каналов мексилетина была сконструирована молекула SZV-270. Это соединение удлиняло интервал QT, удлиняло ПД и ЭРП в желудочках и предсердиях, блокировало ток I_{Kr} в

изолированных кардиомиоцитах (эффекты hERG-блокатора) и уменьшало максимальную скорость деполяризации в желудочках (эффект блокатора Na^+ каналов) [320].

Перспективной биомишенью для разработки кардиопротекторов является, например, канал TASK-1 (член семейства калиевых каналов с двумя порами K_2P), который модулирует сердечную проводимость, реполяризацию и ЧСС [321, 322]. Одним из эффективных блокаторов этого канала является соединение Icagen-4 (IC_{50}(TASK-1) = 1.05 мкМ) [323, 324]. Также следует отметить, что ряд соединений с кардиопротекторной активностью с БСЛ-структурой было найдено среди веществ, выделенных из растительного или другого природного сырья [325, 326]. Например, куркумин ингибировал поздний натриевый ток ($I_{Na,late}$), транзиторный натриевый ток ($I_{Na,T}$), кальциевый ток L-типа ($I_{Ca,L}$) и калиевый ток (I_{Kr}) со значениями IC_{50} 7.53, 398.88, 16.66, и 9.96 мкМ, соответственно, являясь, таким образом, мультитаргетным соединением. Куркумин снижал частоту возникновения и среднюю продолжительность ПТ и ПФ, индуцированных ишемически-реперфузионным повреждением [187].

1.4.7. Выводы по БСЛ с кардиопротекторными свойствами

БСЛ широко представлены в литературе на протяжении всей истории развития медицинской химии кардиопротекторных средств. Соединения этой группы имеются в большинстве известных классов кардиопротекторных средств, таких как: блокаторы HCN-каналов, блокаторы Na^+-каналов, K^+-каналов, β-адреноблокаторы, блокаторы Ca^{2+} каналов и многих других. Многие БСЛ и из других классов биологически активных соединений зачастую имеют кардио-эффекты. Представленные в настоящем разделе БСЛ соответствуют обобщенной фармакофорной модели, в которой два ароматических ядра связаны линкером длиной в среднем 7-10 связей, который содержит не менее одного гетероатома. При этом каждый из подклассов описанных кардиопротекторных средств имеет свои отличительные особенности фармакофорного строения.

Анализ литературных данных позволяет сделать следующие выводы:

1. Структурное сходство большого спектра кардиопротекторных средств и, как следствие, наличие их единой обобщенной фармакофорной модели (рис. 43), свидетельствует о структурном подобии мест связывания этих препаратов на их биомишенях.
2. Большинство БСЛ, соответствующих указанной общей фармакофорной модели и излучавшихся более детально, имеют мультитаргетный механизм действия. При этом следует отметить, что согласно современным представлениям мультитаргетность кардиопротекторного средства является одним из необходимых условий его эффективности, а также безопасности.

3. Согласно результатам изучения SAR одна из ароматических групп БСЛ в некоторых случаях выполняет функцию липофильной части молекулы и может быть заменена на липофильную алифатическую составляющую.
4. Одними из наиболее распространённых заместителей в ароматических фармакофорах БСЛ являются метокси-группы. Вероятно, электронные свойства и объем этой группы обеспечивают необходимое связывание метокси-содержащих лигандов с их мишенями.

Глава 2. Обсуждение результатов

2.1. Направленный дизайн и синтез лигандов TSPO в ряду производных пирроло[1,2-a]пиразина, изучение их нейропсихотропной активности

Современная стратегия фармакологической регуляции белка TSPO рассматривается как научная основа для создания нейропсихотропных средств, обладающих существенным превосходством над бензодиазепинами, действие которых сопровождается седацией, миорелаксацией и побочными эффектами в виде атаксии, нарушений памяти, синдрома отмены и зависимости [9, 327].

Как уже отмечалось в обзоре литературы, важнейшей ролью TSPO является транспорт холестерина на внутреннюю мембрану митохондрий, что является лимитирующей стадией в биосинтезе нейростероидов. Модулируя действие $ГАМК_A$-рецептора, нейростероиды вызывают быстрые анксиолитические и другие нейропсихотропные эффекты без побочного действия [328]. Так, было показано, что аллопрегнанолон обладает анксиолитическим, антидепрессивным, противосудорожным действием, нейропротективной активностью, предотвращает нарушение памяти [329]. Помимо $ГАМК_A$-рецептора, нейростероиды являются лигандами таких биологических мишеней как NMDA, σ1-рецептор, ядерные рецепторы стероидных гормонов, взаимодействие с которыми вносит положительный вклад в их биологическую активность [330].

Так как аллопрегнанолон и другие эндогенные нейростероиды имеют очень короткое время жизни в биологических средах, их непосредственное применение в клинике затруднено. В то же время, использование физиологического потенциала нейростероидных гормонов может быть достигнуто путем модуляции рецептора TSPO при помощи его лигандов.

2.1.1. Дизайн новых лигандов TSPO

Для дизайна новых потенциальных лигандов TSPO первым ключевым критерием являлось их соответствие фармакофорной модели лигандов TSPO. Из литературы известен ряд высокоаффинных синтетических лигандов TSPO, обладающих различными нейропсихотроными эффектами (см. раздел **1.2.4** литературного обзора). Подавляющее большинство известных лигандов соответствуют общей фармакофорной модели Bourguignon и Wermuth (рис. 73). Ядром лиганда должен являться плоский ароматический гетероцикл, в котором в качестве заместителя присутствует свободно-вращающаяся

ароматическая группа. Также в гетероцикле должна присутствовать амидная группа с липофильными заместителями. Важно наличие карбонильной группы в липофильном фрагменте молекулы, она выступает в качестве донора пары электронов [9].

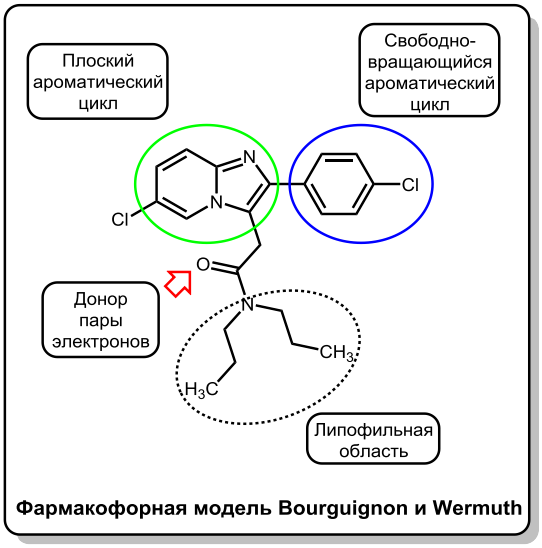
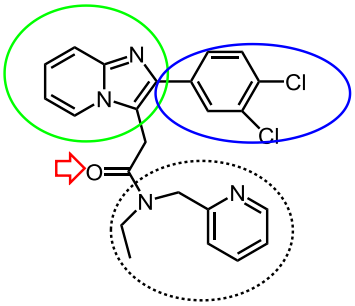
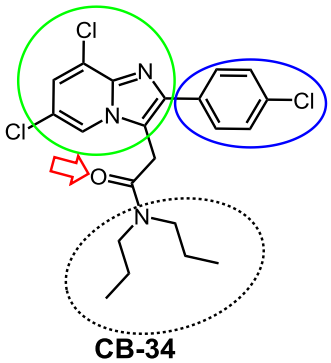


Рисунок 73. Фармакофорная модель лигандов TSPO Bourguignon и Wermuth.

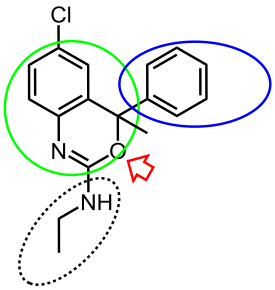
На рисунке 74 представлен ряд известных синтетических лигандов TSPO с обозначением ключевых фармакофорных элементов. Среди них производные имидазопиридина YL-IPA08, CB-34 и Алпидем, бензоксазин Этифоксин, пиридоиндол ONO-2952, производные индола FGIN-1-27 и MPIGA, арилоксианилид DAA-1106, бензодиазепин Ro5-4864, изохинолин PK-11195 и производные пурина XBD-173 и ZBD-2. Все перечисленные соединения, за исключением Этифоксина (IC50 = 18.3 мкМ), обладают наномолярной аффинностью к белку TSPO. Более подробные характеристики данных веществ представлены в главе 1.2.4. литературного обзора.



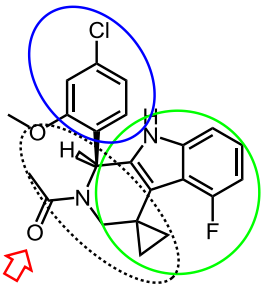
YL-IPA08
IC_{50} = 0.23 нМ



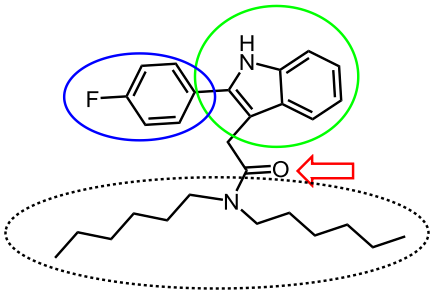
CB-34
IC_{50} = 2.59 нМ



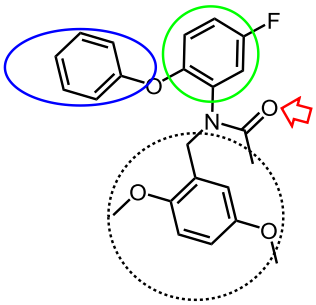
Этифоксин
IC_{50} = 18.3 мкМ



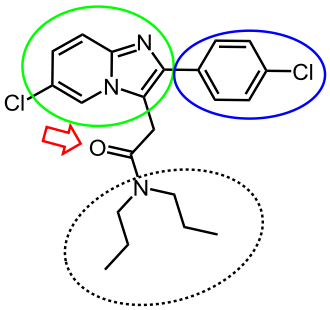
ONO-2952
K_i = 0.33 нМ



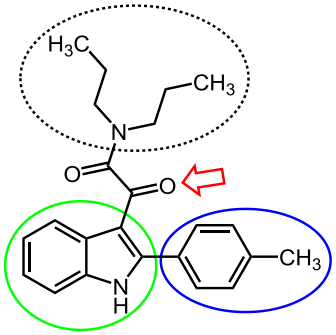
FGIN-1-27
K_i = 7.75 нМ



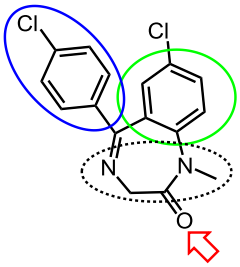
DAA-1106
IC_{50} = 0.28 нМ



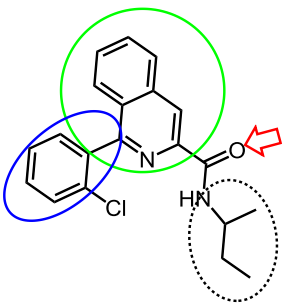
Алпидем
K_i = 0.5-7 нМ



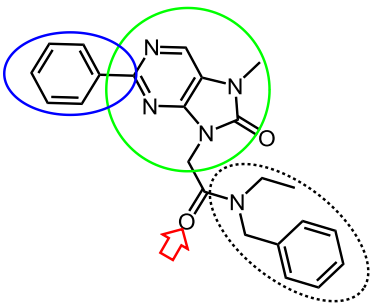
MPIGA
K_i = 5.5 нМ



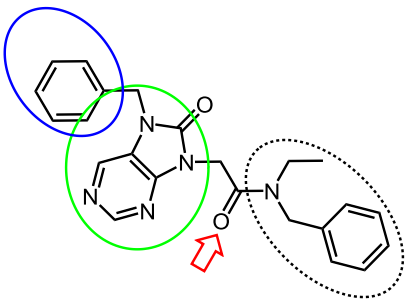
Ro5-4864
K_i = 23 нМ



PK-11195
K_i = 9.3 нМ



XBD-173
K_i = 0.297 нМ



ZBD-2
K_i = 0.463 нМ

Рисунок 74. Классические синтетические лиганды TSPO с экспериментальными константами ингибирования. Ароматические ядра обведены зелеными окружностями, арильные заместители – синими окружностями, гидрофобные группы – черными пунктирными окружностями, электроноакцепторные группы показаны красными стрелками.

Нами при конструировании новых потенциальных лигандов TSPO в качестве остовного гетероцикла был выбран пирроло[1,2-*a*]пиразин с фенильным кольцом в 1-ом положении и наличием амидной группировки в 3-ем положении (рис. 75). Таким образом была предложена группа 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов, в которой присутствуют необходимые для TSPO-лигандов ароматические группы, а также гидрофобная и электроноакцепторная группа [331–333].

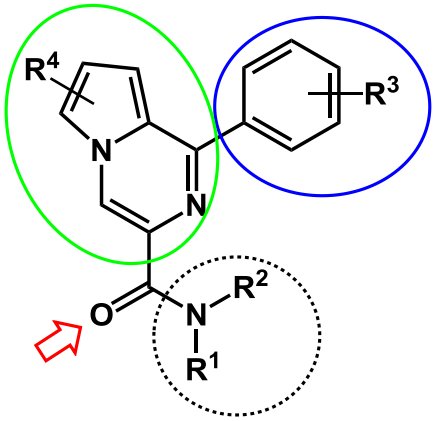


Рисунок 75. Строение предложенной группы новых гетероциклических пирроло[1,2-*a*]пиразин-содержащих лигандов TSPO. Показано наличие ключевых фармакофорных элементов по аналогии с рисунком 73.

На втором этапе дизайна новых молекул на основании библиотеки наиболее перспективных известных лигандов TSPO, обладающих как наилучшими характеристиками связывания с рецептором, так и наиболее привлекательным спектром биологической активности (рис. 74), с использованием программного обеспечения Phase от Schrödinger, была сгенерирована уточненная фармакофорная модель лигандов TSPO (рис. 76). Алгоритм этой программы создает суперпозицию набора пространственных и электронных признаков молекул, включая гидрофобные области и ароматические ядра, доноры и акцепторы водородной связи, анионные и катионные центры и их векторное расположение. Согласно визуализации расчётов, полученная модель имеет следующие компоненты:

1. Две ароматические группы, одна из которых, как правило, гетероциклическая (R7 и R8).
2. Алифатическая или ароматическая гидрофобная группа (H5).
3. Группа акцептора электронов (A1). В большинстве молекул находится между группами H5 и R7/R8.

Молекулы сконструированной группы 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов имели максимально близкое соответствие рассчитанной фармакофорной модели. Для примера на рисунке 76 представлено соответствие фармакофорной модели

молекулы соединения ГМЛ-1 (*N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид).

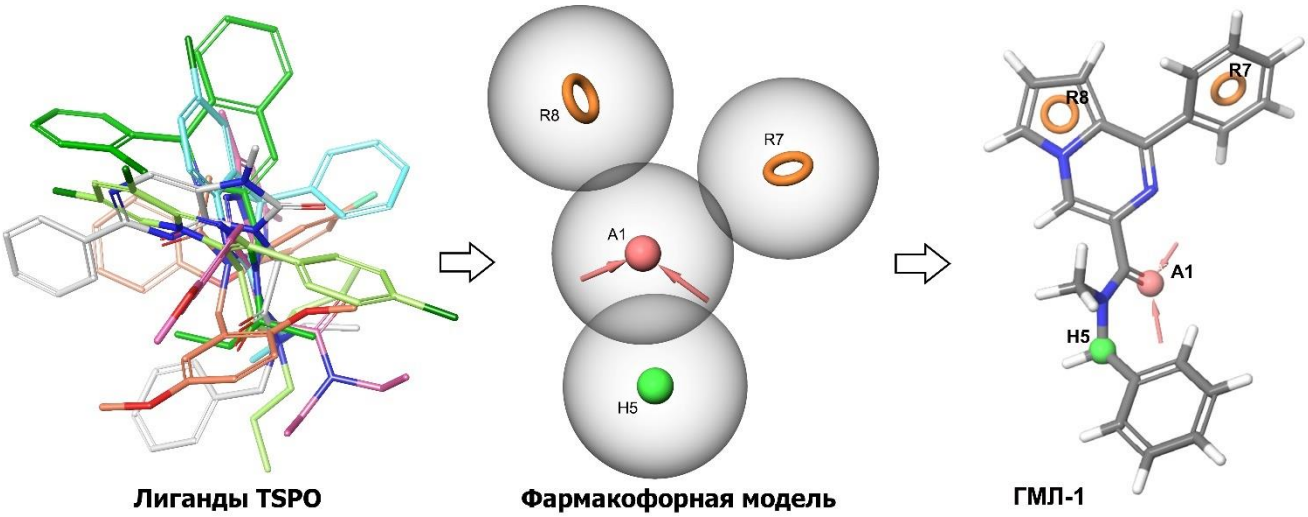


Рисунок 76. Фармакофорная модель лигандов TSPO, сгенерированная с использованием программы Phase Schrödinger. Оранжевые кольца R7 и R8 соответствуют ароматическим/гетероароматическим группам; розовая сфера A1 представляет электроноакцепторную группу; зеленая сфера H5 представляет собой алифатическую или ароматическую гидрофобную группу. В качестве примера представлено соответствие фармакофорной модели молекулы соединения ГМЛ-1.

Для выбора новых молекул в группе 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов на третьем этапе моделирования нами была сгенерирована библиотека из более чем двухсот соединений, в которых широко варьировалось строение и положение заместителей R^1-R^4 с целью выявления наиболее перспективных соединений. В качестве аминов для группы NR^1R^2 использовались первичные и вторичные алкиламины, арилалкиламины, анилины, циклические амины, а также различные аминокислоты и их производные.

Следующим этапом отбора являлась оценка расчетных характеристик взаимодействия «лиганд-рецептор» («docking score» (DS)) соединений, определенных с использованием метода молекулярного докинга (Glide, Schrödinger) и доступной 3D-структуры TSPO (PDB ID: 2MGY)

Докинг проводился с использованием 3D-структуры TSPO в комплексе с селективным лигандом PK-11195 (PDB ID: 2MGY) в программе Glide v8.1 Schrödinger. Для проверки протокола докинга было рассчитано среднеквадратичное отклонение положений атомов (RSMD) между исходным лигандом PK-11195 в белке TSPO и повторно состыкованным подготовленным PK-11195 в сетке. Значение RSMD составило 1,97 Å, что позволило использовать этот протокол для прогнозирования связывания новых лигандов TSPO. В докинг-оптимизации отбирались молекулы, обладающие значениями

DS не более -7. Таким критериям соответствовали порядка 40 соединений первичной базы данных.

Последним этапом отбора соединений для последующего синтеза являлся благоприятный профиль расчетных ADMET-показателей (absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity – всасывание, распределение, метаболизм, выведение, токсичность). ADMET-параметры вычислялись при помощи программы QikProp v6.8 Schrödinger. В качестве основных характеристик определялись: дипольный момент, молекулярный объем, молекулярная масса, количество доноров и акцепторов водородных связей, ионизационный потенциал, липофильность на поверхности раздела фаз различных систем, степень связываемости с белками плазмы крови, параметр проникновения через гемато-энцефалический барьер, аффинность к калиевому ионному каналу hERG, уровень проникновения через биомембраны, соответствие «правилу 5» Липинского и «правилу 3» Йоргенсена, оральная биодоступность и ряд других.

Токсикологические параметры оценивались с использованием программы ADMETlab 2.0. Рассчитывался риск наличия токсичности у соединений в тесте Эймса, острая токсичность у крыс, канцерогенный потенциал, воспалительные свойства по отношению к различным тканям и ряд других параметров.

Отобранные по результатам молекулярного моделирования и результатам оценки расчетных ADMET-параметров наиболее перспективные 32 соединения представлены в таблице 2 и таблице 3. Все эти молекулы продемонстрировали высокую теоретическую аффинность по отношению активному центру TSPO. Скоринг функция DS (Docking score), определяющая энергию взаимодействия «лиганд-рецептор», для всех веществ была ниже значения -7 (таблица 2). Среди ключевых взаимодействий «лиганд-рецептор» наблюдались следующие (таблица 2, рис. 77, рис. 78): большинство соединений имели π-π стэкинговое взаимодействие пиррольного или фенильного кольца с TRP143 и гидрофобное взаимодействие с последовательностью LEY49-TRP53. Многие вещества имели также гидрофобные взаимодействия с последовательностями TRP107-LEY114 и SER41-ARG46. Для некоторых молекул наблюдалось π-π стэкинговое взаимодействие с TRP107. Среди дополнительных взаимодействий «лиганд-рецептор» для предложенного ряда производных пирроло[1,2-a]пиразинов фиксировались следующие: π-катионное взаимодействие с HIS43 (ГМЛ-7, ГМЛ-101, ГМЛ-104); водородная связь с TRP53 (ГМЛ-8, ГМЛ-115); полярное взаимодействие с последовательностью LYS39-ARG46 (ГМЛ-106, ГМЛ-110); гидрофобное взаимодействие с последовательностью TRP143-LEU150 (ГМЛ-9, ГМЛ-10); π-π стэкинговое взаимодействие с TRP95 (ГМЛ-21, ГМЛ-104) и с PHE146 (ГМЛ-103); водородная связь с LYS39 (ГМЛ-23, ГМЛ-104, ГМЛ-113), SER41 (ГМЛ-112)

или TRP53 (ГМЛ-115). Наконец, у бром-содержащего ГМЛ-114 была выявлена галогенная связь атома брома молекулы с TRP53.

Результаты оценки основных ADMET-параметров отобранных соединений представлены в таблице 3. Значения молекулярного веса находились для всех веществ в пределах от 130 до 725 г/моль, что соответствует 95% лекарственных препаратов. Дипольные моменты соединений составляли от 3.9 до 8.4, что вписывается в рекомендуемые параметры для потенциальных лекарственных средств (от 1.0 до 12.5). Липофильность соединений оценивалась путем расчета прежде всего параметра LogP (липофильность на разделе фаз октанол/вода). Известно, что лиганды TSPO, как правило, обладают достаточно высокими значениями липофильности (LogP не менее 3.5). Расчётные значения гидрофобности (LogP) новых соединений находились в диапазоне 3.7–6.5. Следует отметить, что высокий коэффициент липофильности необходим для образования устойчивой π-π связи с остатками триптофана белка. Уровень проникновения веществ через гематоэнцефалический барьер (LogBB) также находился в рекомендуемых пределах от -3.0 до 1.2. Все новые соединения соответствовали правилам Липинского и Йоргенсена, определяющим необходимые требования к строению п/о активных лекарственных средств (расчетные значения для веществ не должны превышать 4 и 3 баллов, соответственно). Оральная биодоступность новых соединений была максимально высокой (100% для всех веществ), за исключением соединения ГМЛ-113 (84%). Расчетные параметры токсичности отобранных молекул свидетельствовали об их перспективности для разработки в качестве потенциальных лекарственных соединений. Все они по расчетам в тесте Эймса (за исключением соединения ГМЛ-104) и по расчетам острой токсичности у крыс при п/о введении показали полное отсутствие этих видов токсичности (значения «-», «--» и «- - -»).

Таблица 2. Результаты расчетов теоретических значений аффинности новых потенциальных лигандов TSPO ряда пирроло[1,2-*a*]пиразинов

Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	Docking score	π-π стэкинг с TRP107	π-π стэкинг с TRP143	Гидрофобные взаимодействия			Дополнительные взаимодействия
								LEY49-TRP53	TRP107-LEY114	SER41-ARG46	
ГМЛ-1	Bn	Me	H	H	-9.622	-	+	+	-	+	
ГМЛ-2	*n*-Bu	Me	Cl	H	-9.016	-	+	+	-	+	
ГМЛ-3	*n*-Bu	Me	H	H	-8.282	-	+	+	-	+	
ГМЛ-4	*n*-Bu	Me	F	H	-9.057	-	+	+	-	+	
ГМЛ-5	*n*-Bu	Me	Br	H	-8.949	-	-	+	+	+	
МЛ-291	*i*-Bu	Me	H	H	-8.279	+	-	+	+	+	
ГМЛ-6	*sec*-Bu	Me	H	H	-8.253	+	-	+	+	+	
ГМЛ-7	Bn	H	H	H	-9.590	+	+	+	+	-	«π-катион» с HIS43
ГМЛ-8	Me	H	H	H	-8.147	-	-	+	+	-	H-связь с TRP53
ГМЛ-9	Bn	Me	F	H	-10.150	-	+	+	-	-	Гидрофобное взаимодействие с TRP143-LEU150
ГМЛ-10	Bn	Me	Cl	H	-10.334	-	+	+	-	-	Гидрофобное взаимодействие с TRP143-LEU150
ГМЛ-11	Ph	Bn	H	H	-10.215	+	-	+	+	+	
ГМЛ-12	*n*-Pr	*n*-Pr	H	H	-8.999	+	+	-	+	+	
ГМЛ-21	Ph	Me	H	H	-7.223	-	+	+	+	-	π-π стэкинг с TRP95
ГМЛ-22	Ph	Et	H	H	-7.105	-	+	+	+	-	
ГМЛ-23	Ph	*n*-Bu	H	H	-8.397	-	-	+	-	+	H-связь с LYS39

ГМЛ-24	Ph	H	H	H	-9.085	+	+	+	-	-	
ГМЛ-101	Et	Bn	H	H	-10.144	-	-	+	+	+	«π-катион» с HIS43
ГМЛ-102	$CHPh_2$	H	H	H	-9.551	-	+	+	+	+	
ГМЛ-103	Bn	Bn	H	H	-9.278	-	+	+	+	-	«π-π» с PHE146
ГМЛ-104	$(CH_2)_2Ph\ (Ome)_2$-3,4	H	H	H	-9,404	-	+	+	-	+	«π-катион» с HIS43; «π-π» с TRP95; Н-связь с LYS39
ГМЛ-105	$CH_2Ph\ (Ome)_3$-3,4,5	H	H	H	-9.391	-	+	+	-	+	
ГМЛ-106	*L*-Phe-Ome	H	H	H	-10.208	-	+	+	-	-	Полярное взаимодействие с LYS39-ARG46
ГМЛ-107	$-(CH_2)_7-$		H	H	-9.193	-	+	+	-	-	
ГМЛ-108	*L*-Glu-Oet	H	H	H	-9.125	-	+	+	-	-	
ГМЛ-109	*L*-Asp-Oet	H	H	H	-9.603	-	+	+	-	-	
ГМЛ-110	*L*-Ala-Ome	H	H	H	-8.726	+	+	+	-	-	Полярное взаимодействие с LYS39-ARG46
ГМЛ-111	*L*-Trp-Oet	H	H	H	-8.083	-	+	+	+	-	
ГМЛ-112	*D*-Tyr-Oet	H	H	H	-10.119	-	+	+	-	-	Н-связь с SER41
ГМЛ-113	*L*-Phe-OH	H	H	H	-10.095	-	+	+	+	-	Н-связь с LYS39
ГМЛ-114	Me	Bn	H	Br	-8.702	+	+	+	+	-	«галогенная связь» с TRP53
ГМЛ-115	Me	Bn	H	CHO	-9.163	+	+	+	+	+	Н-связь с TRP53

Таблица 3. Результаты расчетов параметров ADMET новых потенциальных лигандов TSPO ряда пирроло[1,2-*a*]пиразинов

Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	MW	Дипольный момент	LogP	LogBB	«Правило 5» Липинского	«Правило 3» Йоргенсена	Оральная доступность	Тест Эймса	Острая токсичность у крыс
ГМЛ-1	Bn	Me	H	H	341.412	4.601	5.074	-0.086	1	0	100%	---	---
ГМЛ-2	*n*-Bu	Me	Cl	H	341.839	4.196	4.792	-0.020	0	0	100%	---	---
ГМЛ-3	*n*-Bu	Me	H	H	307.394	4.686	4.508	-0.109	0	0	100%	---	---
ГМЛ-4	*n*-Bu	Me	F	H	325.385	4.053	4.707	-0.062	0	0	100%	---	---
ГМЛ-5	*n*-Bu	Me	Br	H	386.290	3.992	4.939	-0.030	0	0	100%	---	---
МЛ-291	*i*-Bu	Me	H	H	307.394	4.650	4.358	-0.043	0	0	100%	---	---
ГМЛ-6	*sec*-Bu	Me	H	H	307.394	4.345	4.345	0.070	0	0	100%	---	---
ГМЛ-7	Bn	H	H	H	327.385	5.031	4.877	-0.220	0	1	100%	--	---
ГМЛ-8	Me	H	H	H	251.287	4.812	3.189	-0.182	0	0	100%	--	---
ГМЛ-9	Bn	Me	F	H	359.402	5.862	5.316	0.044	1	1	100%	---	---
ГМЛ-10	Bn	Me	Cl	H	403.482	3.927	6.034	-0.042	1	1	100%	---	---
ГМЛ-11	Ph	Bn	H	H	325.385	4.053	4.707	-0.062	0	0	100%	--	---
ГМЛ-12	*n*-Pr	*n*-Pr	H	H	321.421	5.218	4.826	-0.223	0	0	100%	---	---
ГМЛ-21	Ph	Me	H	H	327.385	4.599	4.764	-0.008	0	0	100%	-	---
ГМЛ-22	Ph	Et	H	H	341.412	4.275	4.961	-0.021	0	0	100%	--	---
ГМЛ-23	Ph	*n*-Bu	H	H	369.465	4.040	5.391	-0.083	1	0	100%	---	---
ГМЛ-24	Ph	H	H	H	313.358	5.108	4.597	-0.153	0	0	100%	-	---

ГМЛ-101	Et	Bn	H	H	355.438	4.266	5.433	-0.045	1	1	100%	---	---
ГМЛ-102	$CHPh_2$	H	H	H	403.482	5.183	6.506	-0.209	1	1	100%	---	---
ГМЛ-103	Bn	Bn	H	H	417.509	4.066	5.993	-0.112	1	0	100%	---	---
ГМЛ-104	$(CH_2)_2$Ph $(Ome)_2$-3,4	H	H	H	401.464	6.692	5.032	-0.222	1	0	100%	+	---
ГМЛ-105	CH_2Ph $(Ome)_3$-3,4,5	H	H	H	417.463	6.112	4.786	-0.335	0	0	100%	--	---
ГМЛ-106	*L*-Phe-Ome	H	H	H	399.448	6.215	5.163	-0.676	1	1	100%	--	---
ГМЛ-107	$-(CH_2)_7-$		H	H	319.405	4.690	4.398	0.096	0	0	100%	---	---
ГМЛ-108	*L*-Glu-Oet	H	H	H	423.468	5.230	4.310	-1.027	0	0	100%	---	---
ГМЛ-109	*L*-Asp-Oet	H	H	H	409.441	7.367	4.001	-1.325	0	0	100%	---	---
ГМЛ-110	*L*-Ala-Ome	H	H	H	323.351	4.478	3.689	-0.751	0	0	100%	---	---
ГМЛ-111	*L*-Trp-Oet	H	H	H	452.512	8.433	5.743	-0.954	1	1	100%	--	---
ГМЛ-112	*D*-Tyr-Oet	H	H	H	429.474	4.216	4.874	-1.240	0	1	100%	---	---
ГМЛ-113	*L*-Phe-OH	H	H	H	385.421	6.838	5.126	-1.043	1	1	84%	---	---
ГМЛ-114	Me	Bn	H	Br	420.308	4.335	5.636	0.178	1	1	100%	---	---
ГМЛ-115	Me	Bn	H	CHO	369.422	5.045	4.012	-0.949	0	0	100%	---	---

Примечание: LogP – показатель липофильности на разделе фаз октанол/вода; LogBB – уровень проникновения веществ через гематоэнцефалический барьер. По данным теста Эймса и острой токсичности у крыс указан эффект исследуемых соединений: вероятное наличие эффекта (+), вероятное отсутствие эффекта (–), высоковероятное отсутствие эффекта (– –), однозначное отсутствие эффекта (– – –).

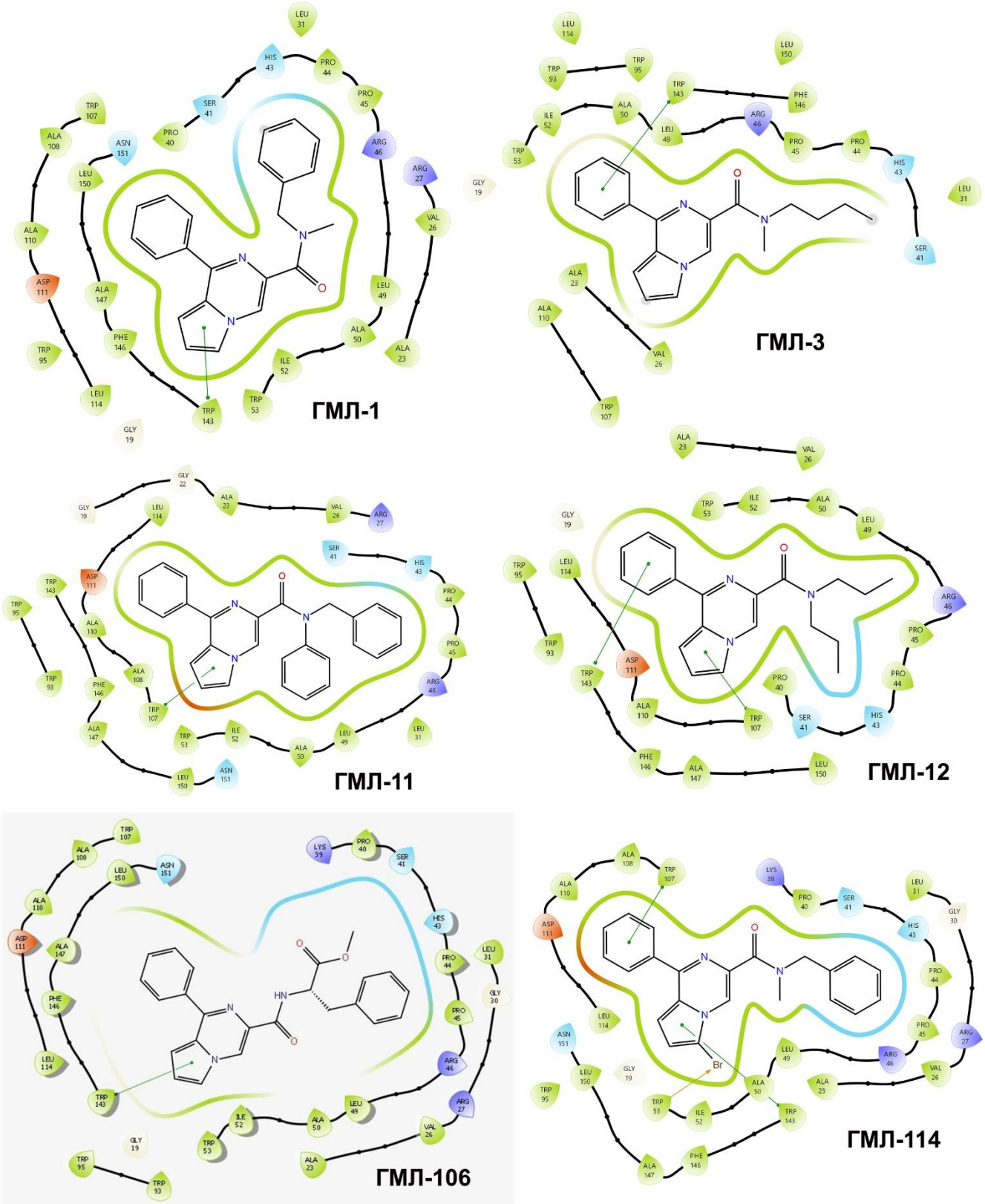


Рисунок 77. Результаты молекулярного докинга некоторых производных 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов (ГМЛ-1, ГМЛ-3, ГМЛ-11, ГМЛ-12, ГМЛ-106 и ГМЛ-114) в активный сайт рецептора TSPO (PDB ID: 2MGY) в 2D-проекции

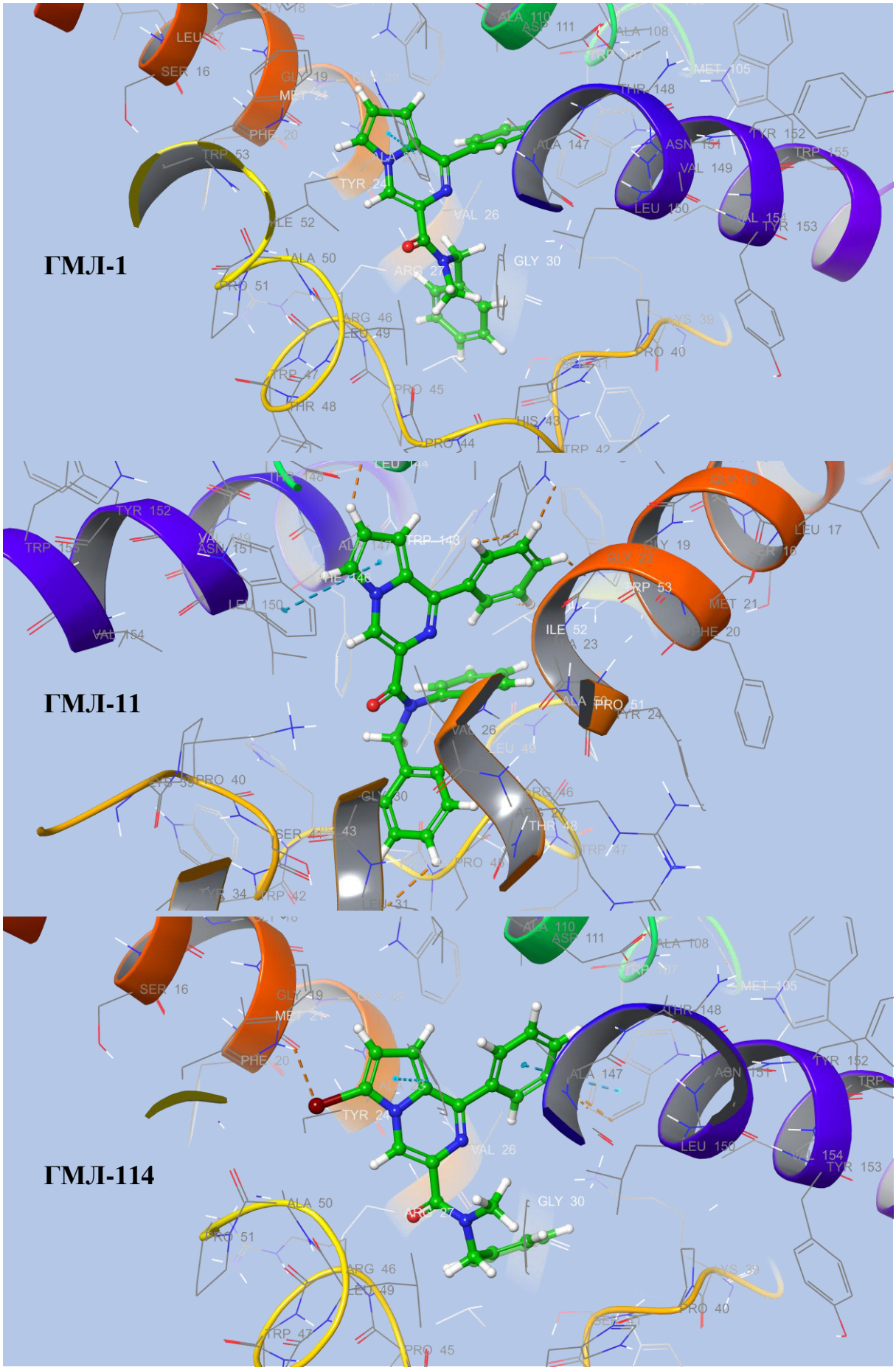


Рисунок 78. Результаты молекулярного докинга некоторых производных 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов (ГМЛ-1, ГМЛ-11 и ГМЛ-114) в активный сайт рецептора TSPO (PDB ID: 2MGY) в 3D-проекции

2.1.2. Синтез новых лигандов TSPO ряда пирроло[1,2-*a*]пиразинов

Для синтеза сконструированных 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1** нами было предложено две стратегии [331–333]. Первая стратегия заключается в разрыве пиразинового цикла, что приводит к синтонам A и B, синтетическими эквивалентами которых могут являться, например, пирроларилкетоны **2.1.2** и 2-азидоакриламиды **2.1.3** (схема 1). Вторая стратегия включает разрыв амидной связи соединений **2.1.1**, что приводит к соответствующим 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновым кислотам **2.1.4** и аминам **2.1.5**. В свою очередь, кислота **2.1.4** может быть получена по аналогии со стратегией 1.

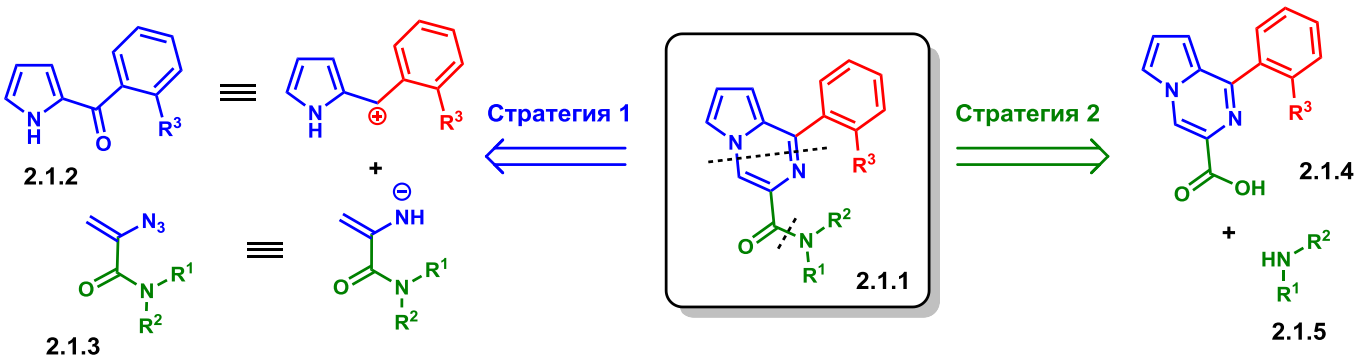


Схема 1. Стратегии синтеза сконструированных 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1**.

В соответствии с первой синтетической стратегией на начальном этапе были синтезированы пирроларилкетоны **2.1.2**. Пирролфенилкетон **2.1.2a** был получен по схеме 2. Сначала взаимодействием бензоилхлорида с морфолином получали соответствующий морфолид **2.1.6**, который вводили в реакцию Вильсмеера с пирролом в присутствии фосфорилхлорида в дихлорэтане, что приводило к целевому кетону **2.1.2a**.

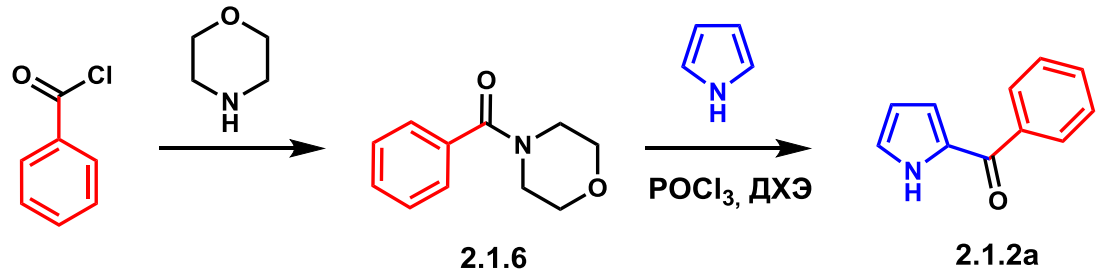


Схема 2. Синтез пирролфенилкетона **2.1.2a**.

Попытки получить пиррол(2-галогенфенил)кетоны **2.1.2b–d** по схеме 2 из 2-галогенбензоилхлоридов оказались безуспешными. При использовании менее объемного диметиламина вместо морфолина целевые соединения были получены лишь в следовых количествах. По-видимому, электроноакцепторный атом галогена в *орто*-

положении бензольного кольца препятствует успешному протеканию реакции конденсации с пирролом. Способ, описанный *Yadav*, заключающийся в реакции пиррола с бензоилхлоридами (на примере 2-хлорбензоилхлорида) в присутствии цинка в растворе толуола [334], не приводил к целевому кетону **2.1.2c** с выходом более 80%, как описано в публикации, но давал смесь кетонов **2.1.2c** и **2.1.7** в соотношении примерно 1:1 с общим выходом около 30% (схема 3).

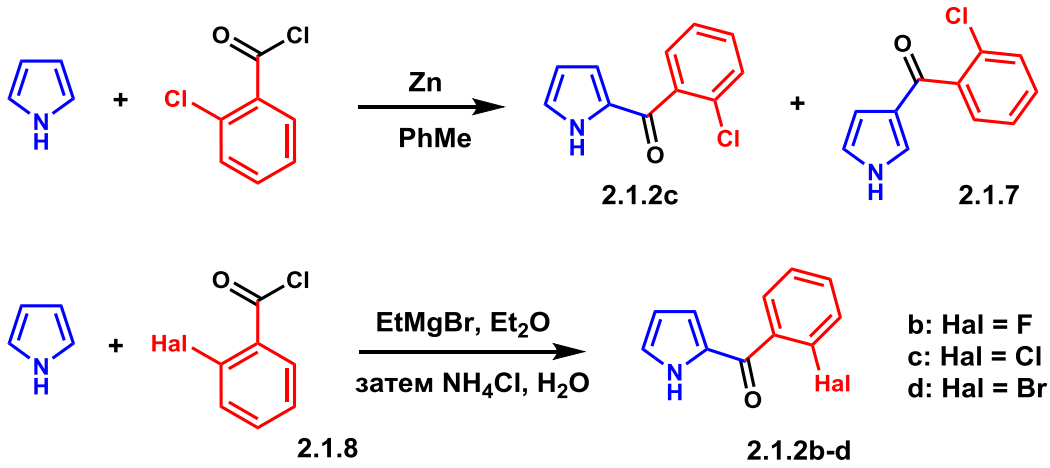
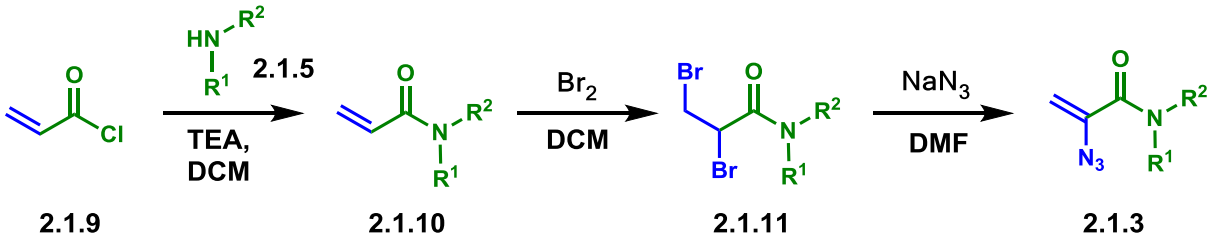


Схема 3. Синтез пиррол(2-галогенфенил)кетонов **2.1.2b-d**

Наилучшие результаты были получены по методу Bailey с использованием реакции Гриньяра (схема 3) [335]. Взаимодействие пиррола с этилмагнийбромидом в эфире с последующим прибавлением 2-галогенбензоилхлоридов **2.1.8** приводило к целевым пиррол(2-галогенфенил)кетонам **2.1.2b-d** с выходом 30–35% без побочных продуктов бета-замещения.

2-Азидоакриламиды **2.1.3** синтезировали по схеме 4.

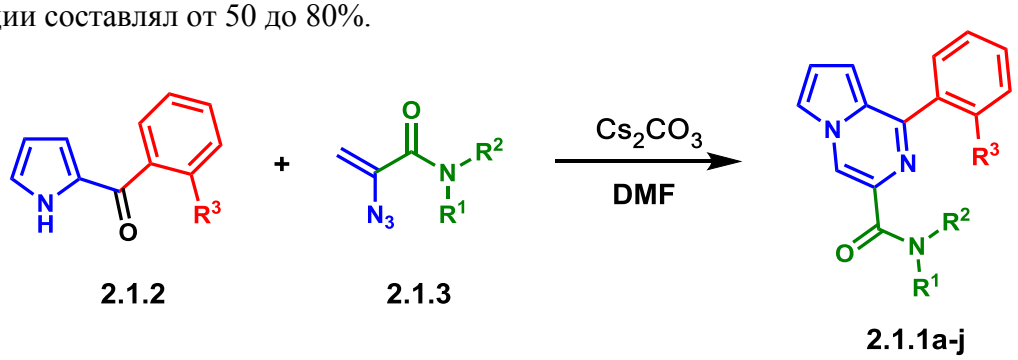


Соединения	R^1	R^2	Выход соед. 2.1.10, %	Выход соед. 2.1.11, %	Выход соед. 2.1.3, %
a	Bn	Me	67	83	78
b	*н*-Bu	Me	80	81	79
c	*изо*-Bu	Me	80	84	77
d	*втор*-Bu	Me	73	80	77
e	Ph	*н*-Bu	91	92	90

Схема 4. Синтез 2-азидоакриламидов **2.1.3**.

При взаимодействии акрилоилхлорида **2.1.9** с аминами **2.1.5** в присутствии триэтиламина образовывались соответствующие акриламиды **2.1.10**, которые далее бромировали в дибромпроизводные **2.1.11**. Установлено, что оптимальными условиями для превращения дибромидов **2.1.11** в 2-азидоакриламиды **2.1.3** является взаимодействие соединений **2.1.11** с азидом натрия в ДМФА при нагревании реакционной смеси в течение 20 мин при 60°С.

Реакцию [3+3]-циклоприсоединения пирроларилкетонов **2.1.2** к 2-азидоакриламидам **2.1.3** проводили в сухом ДМФА в присутствии Cs_2CO_3 в качестве основания (схема 5). Образование пирроло[1,2-а]пиразинов **2.1.1** характеризовалось появлением на ТСХ ярко-желтых пятен, флуоресцирующих в ультрафиолете. Реакция завершалась через 24 ч перемешивания смеси при комнатной температуре. Чистые продукты выделяли перекристаллизацией или колоночной хроматографией. Выход реакции составлял от 50 до 80%.



Соединения	Шифр	R^1	R^2	R^3	Выход, %
2.1.1a	ГМЛ-1	Bn	Me	H	61
2.1.1b	ГМЛ-9	Bn	Me	F	69
2.1.1c	ГМЛ-10	Bn	Me	Cl	61
2.1.1d	ГМЛ-3	Bu	Me	H	57
2.1.1e	ГМЛ-4	Bu	Me	F	54
2.1.1f	ГМЛ-2	Bu	Me	Cl	50
2.1.1g	ГМЛ-5	Bu	Me	Br	66
2.1.1h	МЛ-291	*i*-Bu	Me	H	63
2.1.1i	ГМЛ-6	*sec*-Bu	Me	H	68
2.1.1j	ГМЛ-23	Ph	Bu	H	80

Схема 5. Синтез 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1** реакцией [3+3]-циклоприсоединения пирроларилкетонов **2.1.2** с 2-азидоакриламидами **2.1.3**.

При использовании второй синтетической стратегии для получения целевых 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1** необходимо было синтезировать соответствующие 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновые кислоты **2.1.4** (схема 6). Для этого на первом этапе был получен этиловый эфир 2-азидоакриловой кислоты **2.1.12**

путем реакции этилового эфира дибромпропановой кислоты **2.1.13** с азидом натрия в диметилформамиде. Атомы брома замещаются на азидные группы, затем происходит частичное элиминирование. Далее вещество экстрагируют, и для увеличения элиминирования и выхода целевого продукта экстракт обрабатывается более сильным основанием – диазобициклоундеценом в гексане. Полученный винил-азид **2.1.12** вводили в реакцию [3+3]-циклоприсоединения с пирроларилкетонами **2.1.2** в ДМФА в присутствии карбоната цезия, что приводило к образованию промежуточных эфиров 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновых кислот, который далее гидролизовали действием щелочи в целевые кислоты **2.1.4** с общим выходом 45-54%.

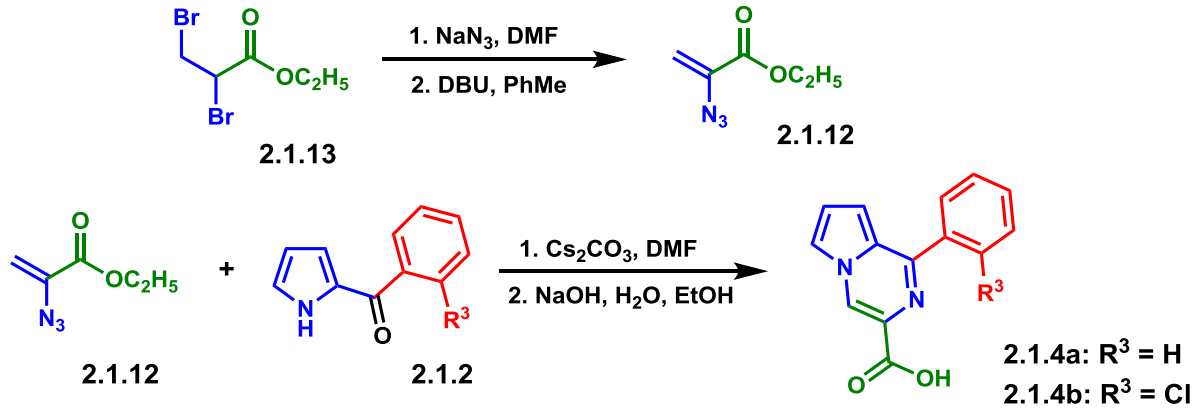
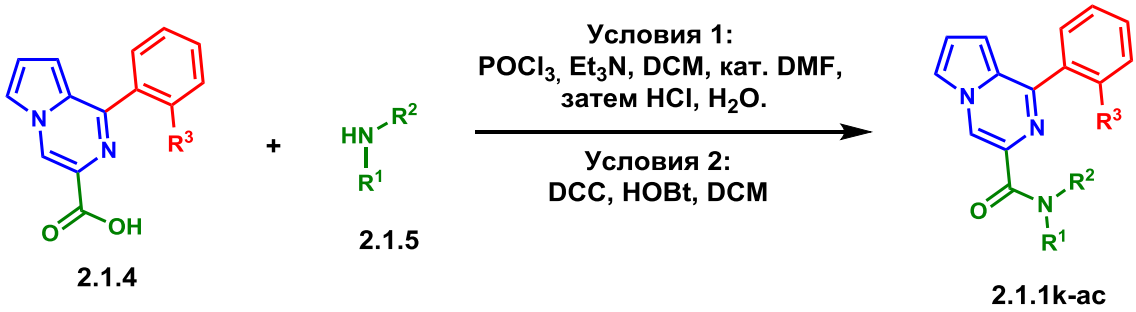


Схема 6. Синтез 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновых кислот **2.1.4**.

Для синтеза 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1** из 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновых кислот **2.1.4** использовалось два подхода (схема 7). В первом случае кислоты **2.1.4** предварительно превращали в промежуточные хлорангидриды действием фосфорилхлорида в присутствии каталитического количества ДМФА. Далее к ним прибавляли амины **2.1.5** в присутствии триэтиламина, что приводило к целевым амидам **2.1.1**. Второй подход заключался в использовании для активизации амидирования конденсирующих агентов: дициклогексилкарбодиимида и гидроксибензотриазола.

При помощи первого подхода были получены соединения **2.1.1a**, **2.1.1k**, **2.1.1l** и **2.1.1f** с выходами 45-53%, а при помощи второго подхода были синтезированы вещества **2.1.1m-2.1.1ac** с выходами 45-90%. Вещества **2.1.1a** и **2.1.1f** получали с использованием второй синтетической стратегии с целью сопоставления удобства и выходов двух синтетических схем. Установлено, что в расчете на пирролфенилкетон первая синтетическая стратегия позволяет получить соединение **2.1.1a** с общим выходом в 61%, в то время как вторая имеет общий выход лишь 24%. Аналогично, в расчете на пиррол(2-хлорфенил)кетон первая синтетическая стратегия позволяет получить соединение **2.1.1f** с общим выходом в 50%, в то время как вторая имеет общий выход лишь 24%. Таким

образом, несомненно, путь синтеза 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **10** из 2-азидоакриламидов представляется более предпочтительным в плане общего выхода целевых веществ. В то же время вторая синтетическая стратегия более удобна, так как позволяет широко варьировать использующийся для синтеза амины **2.1.5** на последней стадии.



Соединения	Шифр	R^1	R^2	R^3	Условия	Выход, %
2.1.1a	ГМЛ-1	Bn	Me	H	1	45
2.1.1k	ГМЛ-7	Bn	H	H	1	53
2.1.1l	ГМЛ-8	Me	H	H	1	45
2.1.1f	ГМЛ-2	Bu	Me	Cl	1	54
2.1.1m	ГМЛ-21	Ph	Me	H	2	67
2.1.1n	ГМЛ-22	Ph	Et	H	2	75
2.1.1o	ГМЛ-11	Ph	Bn	H	2	81
2.1.1p	ГМЛ-24	Ph	H	H	2	70
2.1.1q	ГМЛ-12	*n*-Pr	*n*-Pr	H	2	70
2.1.1r	ГМЛ-101	Et	Bn	H	2	80
2.1.1s	ГМЛ-102	$CHPh_2$	H	H	2	85
2.1.1t	ГМЛ-103	Bn	Bn	H	2	70
2.1.1u	ГМЛ-104	$(CH_2)_2Ph(OMe)_2$-3,4	H	H	2	90
2.1.1v	ГМЛ-105	$CH_2Ph(OMe)_3$-3,4,5	H	H	2	80
2.1.1w	ГМЛ-106	*L*-Phe-OMe	H	H	2	85
2.1.1x	ГМЛ-107	$-(CH_2)_7-$		H	2	85
2.1.1y	ГМЛ-108	*L*-Glu-OEt	H	H	2	65
2.1.1z	ГМЛ-109	*L*-Asp-OEt	H	H	2	78
2.1.1aa	ГМЛ-110	*L*-Ala-OMe	H	H	2	90
2.1.1ab	ГМЛ-111	*L*-Trp-OEt	H	H	2	80
2.1.1ac	ГМЛ-112	*D*-Tyr-OEt	H	H	2	45

Схема 7. Синтез 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1** из 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновых кислот **2.1.4**.

Соединение **2.1.1ad** (ГМЛ-113) было синтезировано при помощи щелочного гидролиза ранее полученного эфира **2.1.1w** с последующим выделением продукта в кислой среде. Вещество **2.1.1ae** (ГМЛ-114) было получено при бромировании **2.1.1a** (ГМЛ-1) бромсукцинимидом в дихлорметане. Соединение **2.1.1af** (ГМЛ-115) синтезировали формилированием **2.1.1a** по Вильсмееру-Хааку действием оксихорида фосфора и диметилформамида (схема 8).

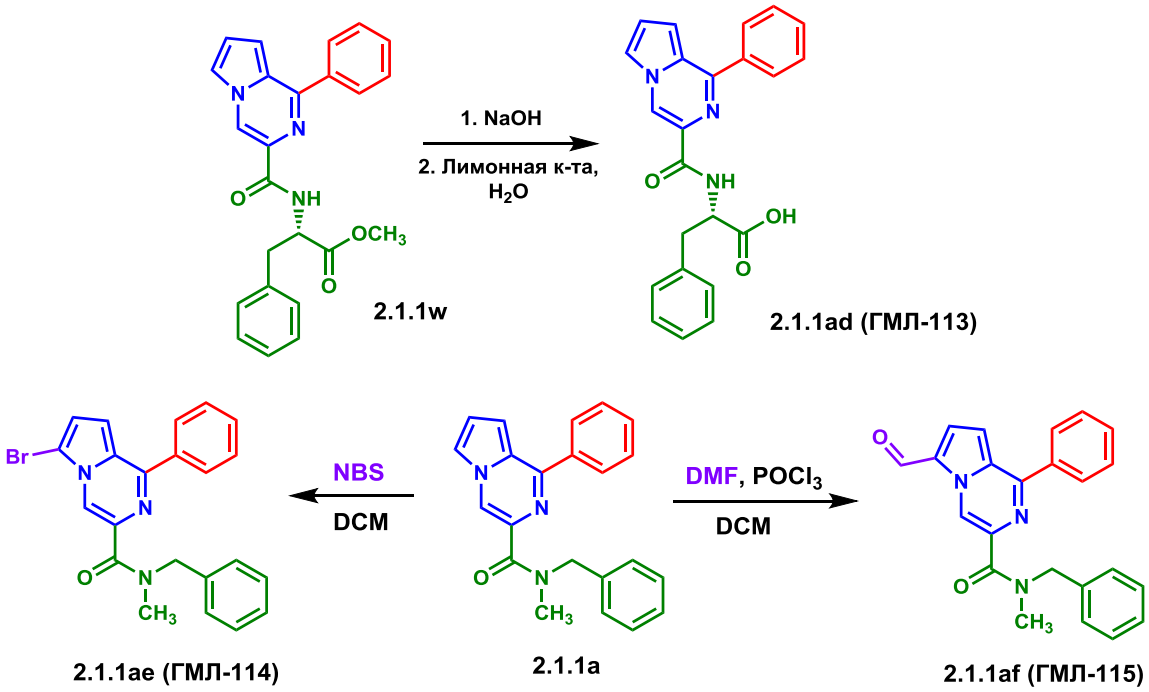


Схема 8. Синтез соединений ГМЛ-113, ГМЛ-114 и ГМЛ-115.

Интересно отметить, что для соединений **2.1.1**, содержащих два разных заместителя при амидном атоме азота, в спектрах ЯМР ^{1}H наблюдалась смесь ротамеров с соотношением от 1:1.4 до 1:1.8. Это соотношение рассчитывали по интегралам соответствующих сигналов заместителей в амидной группе и в первую очередь сигналов метильных групп, резонирующих при δ 2.9-3.3. Наибольшее значение соотношения ротамеров (1:1.8) наблюдалось для соединения **2.1.1i** (ГМЛ-6). Предпочтительным ротамером является тот, в котором объемный *втор*-бутильный заместитель находится в *транс*-положении относительно карбонильной группы. Этот факт подтверждается большой разницей в химических сдвигах между протонами $CHCH_3$ *цис*- (δ 4.72) и *транс*-ротамеров (δ 4.38). Как было показано для соединения PK11195 с той же третичной амидной группой, протон $CHCH_3$ *цис*-ротамера менее экранирован, чем в *транс*-ротамере (δ 4.80 и 3.89 соответственно).

Для соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 было определено их пространственное строение методом порошковой рентгеновской дифракции (рис. 79). Дифракторгамму ГМЛ-1

проиндицировали в моноклинной сингонии; на основании объёма ячейки предположили пространственную группу P2/n. Дифракторгамму ГМЛ-3 проиндицировали в триклинной сингонии; на основании объёма ячейки предположили пространственную группу P-1.

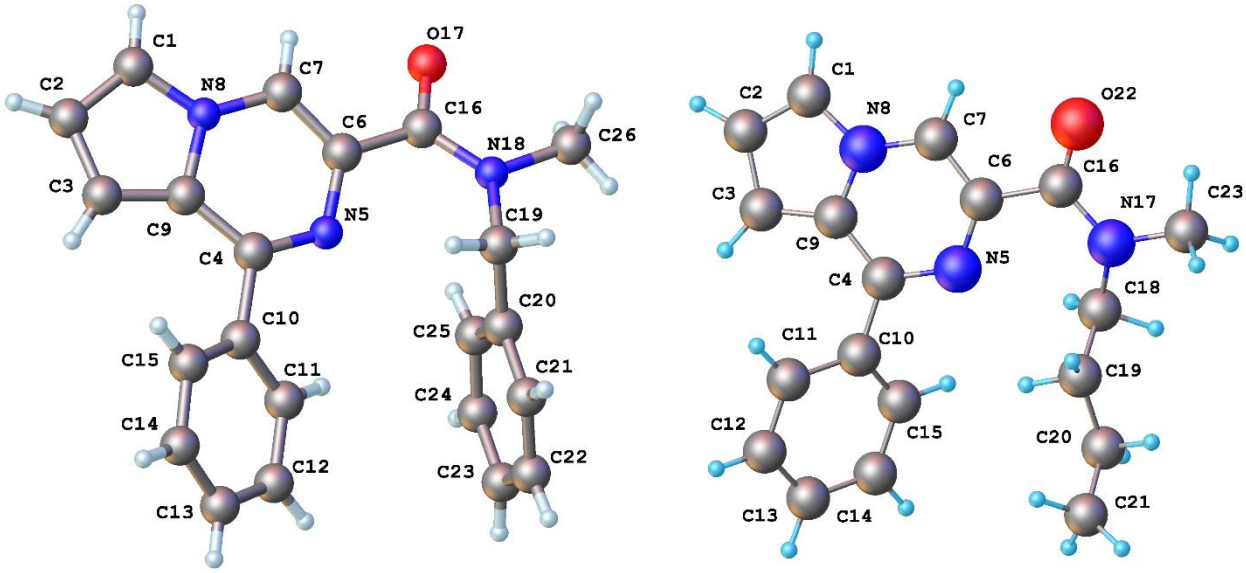


Рисунок 79. Вид молекул ГМЛ-1 (слева) и ГМЛ-3 (справа) в кристалле, атомы изображены тепловыми эллипсоидами p=0.5.

2.1.3. Скрининг нейропсихотропной активности производных пирроло[1,2-*a*]пиразина[1]

Все полученные в кристаллической форме соединения **2.1.1** анализировались прежде всего на наличие анксиолитической активности *in vivo* в условиях эмоционально-стрессового воздействия. Для этого использовались наиболее распространенные поведенческие тесты «открытое поле» (ОП) и ПКЛ. В качестве животных для скрининга использовались мыши различных линий. Так как все вещества были нерастворимыми в воде, их вводили в виде суспензии с Твин-80 и дистиллированной водой. Для первичного скрининга использовалось в/б введение.

2.1.3.1. Влияние соединений 2.1.1 на поведение мышей линии Balb/c в условиях эмоционально-стрессового воздействия в тесте «открытое поле».

В исследовании была применена методика освещенного ОП, при котором перенос животного из темноты на ярко подсвеченную арену, помимо реакции на новую остановку включает дополнительный стрессирующий фактор, основанный на естественном стремлении грызунов избегать ярко освещенных мест [336]. В качестве тест-системы

[1] Исследования выполнены в соавторстве с д.м.н., проф. М.А. Ярковой (отдел фармакологической генетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)

были использованы мыши инбредной линии Balb/c характеризующейся реакцией замирания в тесте ОП использованной модификации [337]. О наличии анксиолитического действия судили по выявлению активирующего эффекта на двигательную активность у животных с реакцией замирания. При этом фиксировали число пересеченных квадратов на периферии (ПА), в центральных областях (ЦА), число заходов в центр (Ц), а также число вертикальных стоек (ВА) и количество дефекаций (Д). Суммарное число пересеченных квадратов вместе с числом вертикальных стоек обозначали как общую активность (ОДА).

Согласно результатам исследования [331–333, 338–340] в тесте ОП наиболее активными оказались следующие соединения (таблица 4): ГМЛ-1 (в дозах 0.1-1.0 мг/кг); ГМЛ-3 (в дозах 0.1-0.5 мг/кг); ГМЛ-11 (в дозах 0.05-0.1 мг/кг); ГМЛ-12 (в дозах 0.1-1.0 мг/кг); ГМЛ-21 (в дозах 0.05-1.0 мг/кг); ГМЛ-22 (в дозах 0.1-1.0 мг/кг); ГМЛ-102 (в дозах 0.1-1.0 мг/кг) и ГМЛ-106 (в дозах 0.1-1.0 мг/кг). В меньшей степени активность была выявлена у следующих соединений: ГМЛ-2 (в дозе 0.5 мг/кг); ГМЛ-4 (в дозе 5.0 мг/кг); ГМЛ-7 (в дозе 1.0 мг/кг); ГМЛ-101 (в дозе 1.0 мг/кг); ГМЛ-104 (тенденция к активности в дозах 0.1-5.0 мг/кг) и ГМЛ-105 (тенденция к активности в дозах 0.1-1.0 мг/кг). Активность соединений фиксировалась прежде всего за счет статистически значимого увеличения периферической и центральной двигательной активности животных в сравнении с контролем, что характерно для соединений, обладающих анксиолитическим действием. Соединения ГМЛ-5, ГМЛ-6, ГМЛ-7, ГМЛ-23, ГМЛ-24 и ГМЛ-103 были неактивными в тесте ОП.

Таблица 4. Влияние соединений **2.1.1** на поведение мышей линии Balb/c в тесте ОП.

Соединение	**Дозы, мг/кг**	**ПА**	**ЦА**	**Ц**	**ВА**	**ОДА**	**Деф**
Контроль для ГМЛ-1		12,58 (6,56)	0,08 (0,29)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	12,67 (6,67)	0,67 (0,65)
ГМЛ-1	0,1	**42,88 (10,58)***	1,25 (2,76)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**44,13 (12,48)***	0,75 (1,04)
	0,5	**48,25 (6,54)***	1,13 (1,73)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	**49,50 (7,03)***	0,25 (0,46)
	1,0	**41,38 (8,21)***	1,38 (2,07)	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	**42,88 (8,29)***	0,88 (0,64)
	5,0	18,13 (14,82)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	18,13 (14,82)	1,25 (1,04)
	p (ANOVA)	0,0000	0,043	0,343	0,343	0,0000	0,161
Контроль для ГМЛ-2 и ГМЛ-3		7,38 (5,13)	0,63 (1,77)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,00 (5,76)	1,38 (0,92)
ГМЛ-2	0,1	3,75 (1,83)	1,63 (4,60)	0,38 (1,06)	0,00 (0,00)	5,75 (5,23)	0,88 (0,64)
	1,0	14,13 (7,70)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	14,25 (7,74)	1,25 (1,04)
	0,5	**1,88 (1,25)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**1,88 (1,25)***	1,13 (1,13)
	5,0	8,50 (5,81)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,50 (5,81)	2,00 (1,20)
	p (ANOVA)	0,001	0,715	0,406	1,000	0,003	0,310
ГМЛ-3	0,1	**19,63 (13,98)***	2,38 (5,29)	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	**22,13 (18,49)***	1,13 (0,99)
	0,5	**18,88 (13,59)***	**11,63 (9,68)***	0,25 (0,46)	0,13 (0,35)	**30,88 (21,44)***	1,00 (1,07)
	1,0	10,50 (8,54)	1,88 (2,95)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	12,38 (8,96)	1,50 (1,20)
	5,0	13,00 (9,59)	1,88 (4,12)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	14,88 (12,97)	1,13 (0,64)

Соединение	Дозы, мг/кг	ПА	ЦА	Ц	ВА	ОДА	Деф
	p (ANOVA)	0,141	0,003	0,084	0,545	0,065	0,828
Контроль для ГМЛ-4 и ГМЛ-5		8,00 (4,69)	0,38 (0,74)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,38 (4,96)	1,38 (0,74)
ГМЛ-4	0,5	10,25 (3,49)	0,25 (0,71)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	10,50 (4,07)	1,13 (0,35)
	1,0	6,13 (6,96)	1,38 (1,92)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	7,50 (6,97)	1,88 (0,64)
	5,0	**13,38 (4,53)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	13,38 (4,53)	2,25 (1,16)
	10,0	13,75 (8,14)	**4,88 (4,39)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**18,63 (8,45)***	1,75 (0,71)
	p (ANOVA)	0,064	0,0002	1,000	1,000	0,025	0,032
ГМЛ-5	0,1	6,63 (3,34)	0,25 (0,71)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,88 (3,83)	1,63 (0,92)
	0,5	7,25 (6,11)	0,38 (0,74)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	7,63 (6,44)	1,38 (1,51)
	1,0	7,25 (3,62)	0,38 (1,06)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	7,63 (4,57)	1,38 (0,92)
	5,0	7,38 (7,76)	0,50 (0,93)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	7,88 (7,68)	1,38 (0,92)
	p (ANOVA)	0,929	0,957	1,000	1,000	0,975	0,915
Контроль для ГМЛ-6 и ГМЛ-7		5,88 (3,00)	0,75 (1,75)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,63 (3,34)	2,00 (0,93)
ГМЛ-6	0,1	5,50 (2,14)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	5,50 (2,14)	2,75 (1,16)
	0,5	8,75 (4,46)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,75 (4,46)	2,50 (1,31)
	1,0	3,38 (2,83)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	3,38 (2,83)	3,00 (1,20)
	5,0	3,75 (3,96)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	3,75 (3,96)	1,88 (1,13)
	p (ANOVA)	0,054	0,084	1,000	1,000	0,054	0,257
ГМЛ-7	0,1	4,00 (1,20)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	4,00 (1,20)	1,38 (0,74)
	0,5	7,63 (2,88)	0,88 (1,64)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,50 (2,88)	1,38 (1,51)
	1,0	3,00 (2,45)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**3,00 (2,45)***	1,88 (0,83)
	5,0	5,75 (3,73)	0,75 (1,75)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,50 (3,89)	1,63 (1,30)
	p (ANOVA)	0,022	0,337	1,000	1,000	0,008	0,649
Контроль для ГМЛ-8		3,50 (2,78)	1,50 (2,07)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	5,13 (3,94)	2,00 (1,69)
ГМЛ-8	0,1	5,38 (1,41)	0,75 (1,49)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,13 (1,13)	2,50 (1,60)
	0,5	4,63 (1,60)	0,25 (0,71)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	4,88 (1,96)	2,25 (1,04)
	1,0	**9,75 (8,21)***	0,38 (0,74)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	10,13 (8,24)	1,75 (1,28)
	5,0	7,13 (5,33)	2,13 (2,36)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9,25 (6,41)	2,00 (1,20)
	p (ANOVA)	0,192	0,311	0,406	1,000	0,359	0,851
Контроль для ГМЛ-11		17,81 (9,57)	0,38 (0,72)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	18,19 (9,70)	1,81 (1,38)
ГМЛ-11	0,050	**35,63 (16,68)***	**3,13 (3,76)***	0,00 (0,00)	0,63 (1,06)	**39,38 (19,05)***	2,50 (1,60)
	0,100	**48,63 (16,41)***	**4,88 (4,55)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**53,50 (19,02)***	2,00 (1,69)
	0,500	14,57 (4,65)	0,29 (0,76)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	14,86 (5,27)	1,29 (1,25)
	1,000	19,00 (8,52)	0,63 (1,19)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	19,63 (8,75)	1,25 (1,28)
	p (ANOVA)	0,0000	0,0052	1,0000	0,0016	0,0000	0,4454
Контроль для ГМЛ-12		11,27 (6,86)	2,00 (2,65)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	13,27 (9,16)	1,64 (1,50)
ГМЛ-12	0,1	**22,88 (14,78)***	2,25 (1,58)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**25,13 (13,76)***	2,00 (0,76)
	0,5	**20,38 (5,55)***	2,00 (1,69)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**22,38 (6,19)***	2,38 (2,67)
	1,0	**34,38 (12,09)***	**10,38 (7,48)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**44,75 (15,82)***	1,63 (1,51)
	5,0	20,00 (10,85)	1,88 (2,42)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	21,88 (10,16)	1,75 (1,39)
	p (ANOVA)	0,029	0,021	1	1	0,002	0,854
Контроль для ГМЛ-21		10,63 (4,57)	0,63 (1,06)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	11,25 (4,86)	0,38 (0,52)
ГМЛ-21	0,05	**32,00 (13,85)***	**8,50 (9,02)***	0,25 (0,46)	0,13 (0,35)	**40,88 (12,53)***	0,75 (0,71)
	0,10	**47,38 (18,65)***	**4,25 (4,77)***	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	**51,75 (23,11)***	0,50 (0,76)
	0,50	**39,38 (19,36)***	**3,50 (2,07)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**42,88 (20,39)***	1,00 (1,20)
	1,00	26,50 (21,53)*	0,63 (0,92)	0,00 (0,00)	0,38 (0,74)	**27,50 (22,11)***	0,88 (0,83)

Соединение	Дозы, мг/кг	ПА	ЦА	Ц	ВА	ОДА	Деф
	5,00	13,13 (8,49)	0,25 (0,46)	0,25 (0,46)	0,00 (0,00)	13,63 (9,02)	0,88 (1,13)
	p (ANOVA)	0,0000	0,0001	0,1286	0,3612	0,0000	0,7799
Контроль для ГМЛ-22		6,38 (4,14)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,38 (4,14)	0,88 (0,99)
ГМЛ-22	0,1	**12,88 (4,29)***	2,13 (3,09)	0,00 0,00)	0,00 (0,00)	**15,00 (6,46)***	0,88 (0,64)
	0,5	**23,88 (10,99)***	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**24,00 (10,90)***	0,88 (0,83)
	1,0	**21,00 (4,34)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**21,00 (4,34)***	2,00 (1,31)
	5,0	6,38 (4,41)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,38 (4,41)	**2,25 (1,28)***
	p (ANOVA)	0,0000	0,0079	1,000	1,000	0,0000	0,0393
Контроль для ГМЛ-23		16,00 (9,06)	1,13 (1,36)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	17,13 (10,08)	0,25 (0,71)
ГМЛ-23	0,1	17,38 (12,43)	1,13 (1,13)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	18,50 (12,97)	0,63 (0,92)
	0,5	9,25 (3,37)	0,25 (0,46)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9,50 (3,55)	1,00 (1,41)
	1,0	21,75 (14,38)	0,63 (1,41)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	22,38 (15,40)	**1,25 (1,28)***
	5,0	14,63 (6,97)	1,13 (2,03)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	15,75 (7,55)	**1,88 (1,46)***
	p (ANOVA)	0,2597	0,3072	1,0000	1,0000	0,2127	0,0772
Контроль для ГМЛ-24		14,13 (8,64)	2,25 (2,12)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	16,37 (9,80)	1,13 (0,83)
ГМЛ-24	0,1	18,25 (9,00)	2,25 (2,05)	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	20,63 (10,25)	0,63 (0,74)
	0,5	15,75 (7,23)	3,00 (4,11)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	18,88 (10,55)	0,75 (0,71)
	1,0	**21,00 (7,75)***	0,75 (1,16)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	21,75 (8,76)	1,63 (1,41)
	5,0	13,13 (7,40)	1,88 (2,42)	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	15,13 (8,17)	0,50 (0,76)
	p (ANOVA)	0,1833	0,5794	0,4060	0,5447	0,4768	0,2368
Контроль для ГМЛ-101 – ГМЛ-106		22,00 (9,40)	2,13 (2,36)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	24,13 (10,97)	0,63 (0,74)
ГМЛ-101	0,1	34,38 (19,99)	3,88 (2,42)	0,00 (0,00)	0,88 (1,36)	39,13 (21,05)	1,00 (1,31)
	0,5	31,88 (20,79)	3,25 (4,59)	0,13 (0,35)	0,13 (0,35)	35,38 (21,86)	0,50 (0,76)
	1,0	**58,88 (14,63)***	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**59,00 (14,62)***	0,63 (0,74)
	5,0	34,75 (27,76)	3,25 (9,19)	0,50 (1,41)	0,00 (0,00)	38,50 (25,07)	0,25 (0,46)
	p (ANOVA)	0,0212	0,0123	0,5445	0,0091	0,0232	0,7131
ГМЛ-102	0,1	**41,63 (10,34)***	4,38 (3,66)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	**46,00 (13,69)***	1,25 (1,04)
	0,5	**48,88 (10,83)***	**10,25 (10,53)***	1,00 (2,07)	0,38 (0,52)	**60,50 (15,01)***	1,00 (1,07)
	1,0	**49,00 (12,33)***	7,38 (6,72)	0,13 (0,35)	1,25 (2,38)	**57,75 (16,27)***	1,00 (1,07)
	5,0	27,00 (9,02)	1,13 (2,10)	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	28,25 (9,92)	1,25 (1,04)
	p (ANOVA)	0,0001	0,0062	0,0535	0,0366	0	0,6953
ГМЛ-103	0,1	21,25 (12,52)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	21,38 (12,77)	0,88 (1,13)
	0,5	21,00 (8,64)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	21,13 (8,68)	0,50 (0,76)
	1,0	20,63 (7,95)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	20,75 (7,92)	0,88 (0,99)
	5,0	19,50 (7,58)	0,25 (0,46)	0,25 (0,46)	0,00 (0,00)	20,00 (8,04)	0,50 (0,76)
	p (ANOVA)	0,9945	0,0383	0,0842	1	0,9658	0,8721
ГМЛ-104	0,1	27,13 (9,51)	4,75 (3,15)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	31,88 (8,17)	1,50 (1,07)
	0,5	29,75 (11,89)	3,13 (4,19)	0,38 (1,06)	0,50 (1,07)	33,75 (16,39)	1,13 (1,13)
	1,0	25,25 (10,02)	6,25 (9,32)	0,63 (1,19)	0,00 (0,00)	32,13 (18,51)	0,75 (0,89)
	5,0	29,88 (21,80)	3,63 (8,67)	0,00 (0,00)	1,13 (3,18)	34,63 (33,36)	1,00 (1,20)
	p (ANOVA)	0,7003	0,3697	0,2372	0,2446	0,5328	0,502
ГМЛ-105	0,1	32,88 (13,28)	3,13 (3,87)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	36,00 (15,24)	1,38 (1,41)
	0,5	38,88 (21,92)	0,38 (0,74)	0,00 (0,00)	0,25 (0,46)	39,50 (22,54)	**2,50 (1,20)***
	1,0	32,63 (14,93)	2,25 (3,81)	0,25 (0,71)	0,00 (0,00)	35,13 (13,05)	1,88 (1,96)
	5,0	23,25 (7,63)	0,50 (0,53)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	23,75 (7,54)	1,88 (1,96)

Соединение	Дозы, мг/кг	ПА	ЦА	Ц	ВА	ОДА	Деф
	p (ANOVA)	0,1779	0,1343	0,406	0,0842	0,1608	0,082
ГМЛ-106	0,1	21,13 (11,01)	0,25 (0,46)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	21,38 (10,76)	1,00 (1,07)
	0,5	27,50 (7,63)	7,63 (9,46)	0,63 (1,06)	0,00 (0,00)	35,75 (14,75)	0,88 (0,83)
	1,0	**36,00 (10,61)***	4,13 (3,44)	0,25 (0,46)	0,00 (0,71)	**40,63 (13,76)***	2,13 (1,81)
	5,0	**39,00 (6,91)***	9,13 (11,80)	0,75 (1,49)	0,00 (0,00)	**48,88 (13,21)***	1,63 (1,41)
	p (ANOVA)	0,0041	0,0472	0,2	0,406	0,0024	0,2645

Примечание – Данные представлены в виде M(SD), где M-среднее арифметическое; SD-стандартное отклонение; * - статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с группой «Контроль» согласно критерию Манна-Уитни. P (ANOVA) – p-значение по результатам теста Краскела-Уоллеса.
Сокращения: ПА – число пересеченных квадратов на периферии, ЦА – число пересеченных квадратов в центральных областях, Ц – число заходов в центр, ВА – число вертикальных стоек, ОДА – общая двигательная активность, Д – количество дефекаций.

2.1.3.2. Влияние соединений 2.1.1 на поведение мышей ICR в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

В тесте ПКЛ в соответствии с Pellow и соавт. [341] оценивали время пребывания мышей ICR в открытых и закрытых рукавах лабиринта, а также число заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта. При этом основными критериями наличия анксиолитической активности являлись следующие показатели: время (%) пребывания в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах ($T_{откр}/(T_{откр} + T_{закр})$) и число (%) заходов в открытые рукава по отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта ($N_{откр}/(N_{откр} + N_{закр})$). В качестве препарата сравнения использовали диазепам в дозе 1 мг/кг.

Таблица 5. Влияние соединений **2.1.1** на поведение мышей ICR в тесте ПКЛ.

Соединение	Доза, мг/кг	Время в открытых рукавах, с	Время в закрытых рукавах, с	Число заходов в открытые рукава	Число заходов в закрытые рукава	$T_{откр}/(T_{откр} + T_{закр})$, %	$N_{откр}/(N_{откр} + N_{закр})$, %
Контроль для ГМЛ-1		36,38 (14,74)	145,75 (12,04)	3,75 (1,58)	7,75 (1,04)	19,36 (5,76)	31,51 (7,99)
ГМЛ-1	0,1 мг/кг	**71,50 (29,20)***	**105,75 (8,36)***	5,00 (2,39)	8,13 (2,36)	**38,82* (11,16)**	37,32 (12,73)
	0,5 мг/кг	**63,88 (19,03)***	138,25 (17,63)	4,50 (1,31)	8,63 (2,13)	**31,35* (8,16)**	34,50 (7,58)
	1,0 мг/кг	**77,13 (12,70)***	**117,75 (10,90)***	5,38 (1,41)	7,38 (1,92)	**39,50* (5,51)**	**42,17* (5,65)**
	5,0 мг/кг	30,13 (7,10)	135,13 (28,12)	2,50 (0,76)	8,25 (1,75)	18,78 (5,60)	23,43 (6,18)
	p (ANOVA)	0,0002	0,001	0,008	0,779	<0,0001	0,0072
Контроль для ГМЛ-3		20,38 (11,75)	142,63 (16,62)	1,75 (0,71)	7,50 (0,93)	12,01 (5,59)	18,54 (6,08)
ГМЛ-3	0,1 мг/кг	**47,88 (22,94)***	**91,25 (16,57)***	**3,50 (1,60)***	8,38 (1,60)	**33,49* (14,47)**	**28,85* (12,09)**
	0,5 мг/кг	31,00 (32,02)	**109,38 (16,80)***	2,88 (2,47)	7,50 (1,69)	20,03 (18,68)	23,50 (16,37)
	1,0 мг/кг	17,75 (11,27)	**110,88 (25,75)***	2,00 (1,07)	8,13 (2,64)	13,57 (7,26)	20,31 (9,06)
	5,0 мг/кг	34,25 (40,34)	126,00 (16,80)	2,88 (3,04)	9,38 (2,39)	18,06 (19,86)	19,48 (17,18)

Соединение	Доза, мг/кг	Время в открытых рукавах, с	Время в закрытых рукавах, с	Число заходов в открытые рукава	Число заходов в закрытые рукава	$T_{откр}/(T_{откр} + T_{закр})$, %	$N_{откр}/(N_{откр} + N_{закр})$, %
	p (ANOVA)	0,321	0,001	0,445	0,328	0,2067	0,4787
Контроль для ГМЛ-12		0,00 (0,00; 7,50)	219,00 (208,50; 229,00)	0,00 (0,00; 2,00)	11,00 (9,50; 12,00)	0,00 (0,00; 3,34)	0,00 (0,00; 14,22)
ГМЛ-12	0,1 мг/кг	**39,50 (31,50; 51,00)***	**177,00 (165,00; 188,50)***	**4,50 (2,50; 5,50)***	10,50 (9,50; 11,00)	**18,37 (15,25; 22,24)***	**28,96 (21,54; 35,50)***
	0,5 мг/кг	**27,00 (24,00; 42,50)***	**166,00 (158,50; 178,00)***	**3,00 (3,00; 5,00)***	11,00 (10,00; 13,50)	**14,09 (12,14; 19,53)***	**22,25 (17,71; 33,73)***
	1,0 мг/кг	**39,50 (34,00; 51,50)***	**169,00 (140,00; 183,50)***	**4,50 (3,50; 7,00)***	11,00 (9,50; 12,00)	**18,63 (16,40; 25,70)***	**30,95 (23,61; 36,67)***
	5,0 мг/кг	**14,50 (9,50; 25,00)***	**197,00 (181,00; 211,00)***	2,00 (1,50; 2,50)	10,50 (8,50; 11,50)	**6,84 (4,29; 12,13)***	**16,23 (10,42; 23,64)***
	p (ANOVA)	0,0000	0,0001	0,0005	0,6673	0,0000	0,0010
Контроль для ГМЛ-107–112	–	23 (4; 33)	72 (68; 83)	4 (1; 5)	10 (8; 12)	22 (4; 33)	28 (5; 35)
ГМЛ-107	0.1	**46 (29; 55)***	81 (58; 86)	4 (3; 8)	7 (7; 10)	**37 (28; 44)***	36 (32; 43)*
	0.5	19 (0; 31)	48 (19; 85)	4 (0; 7)	7 (4; 10)*	17 (2; 38)	33 (6; 41)
	1.0	46 (2; 53)	47 (33; 90)	7 (0; 11)	9 (8; 10)	41 (8; 51)	42 (10; 57)
	5.0	13 (7; 21)	**60 (25; 66)***	3 (2; 5)	9 (4; 11)	23 (11; 41)	34 (16; 42)
	p (ANOVA)	0.0482	0.1797	0.5636	0.2152	0.1019	0.1974
ГМЛ-108	0.1	4 (0; 9)	99 (52; 135)	1 (0; 2)	12 (8; 14)	4 (0; 14)	10 (0; 14)
	0.5	10 (1; 28)	86 (72; 111)	2 (0; 5)	12 (8; 14)	10 (1; 24)	22 (3; 29)
	1.0	10 (1; 29)	84 (62; 108)	2 (0; 5)	10 (8; 11)	10 (1; 23)	18 (2; 34)
	5.0	17 (4; 31)	**98 (82; 137)***	2 (0; 4)	10 (8; 12)	19 (3; 24)	18 (2; 27)
	p (ANOVA)	0.6052	0.3363	0.7266	0.779	0.4242	0.3671
ГМЛ-109	0.1	6 (1; 31)	**56 (45; 68)***	2 (0; 4)	8 (6; 10)	10 (2; 22)	19 (3; 37)
	0.5	0 (0; 9)	73 (32; 105)	0 (0; 3)	11 (6; 14)	0 (0; 18)	0 (0; 27)
	1.0	**0 (0; 5)***	97 (71; 125)	**0 (0; 1)***	11 (8; 13)	0 (0; 5)*	0 (0; 13)*
	5.0	39 (2; 75)	70 (47; 91)	4 (1; 9)	9 (5; 11)	35 (2; 44)	33 (4; 52)
	p (ANOVA)	0.0363	0.0896	0.0646	0.3588	0.0341	0.0648
ГМЛ-110	0.1	6 (0; 31)	74 (46; 111)	2 (0; 5)	9 (6; 10)	8 (0; 21)	15 (0; 35)
	0.5	5 (0; 35)	95 (44; 109)	1 (0; 5)	13 (3; 15)	11 (0; 33)	14 (0; 33)
	1.0	3 (0; 11)	47 (2; 91)	1 (0; 3)	5 (1; 11)	4 (0; 24)	9 (0; 39)
	5.0	5 (0; 27)	90 (78; 100)	2 (0; 3)	9 (8; 12)	6 (0; 23)	12 (3; 30)
	p (ANOVA)	0.7439	0.2865	0.8068	0.236	0.7638	0.8965
ГМЛ-111	0.1	0 (0; 3)	**45 (25; 61)****	**0 (0; 1)***	**6 (4; 8)****	0 (0; 5)	0 (0; 11)

Соединение	Доза, мг/кг	Время в открытых рукавах, с	Время в закрытых рукавах, с	Число заходов в открытые рукава	Число заходов в закрытые рукава	$T_{откр}/(T_{откр} + T_{закр})$, %	$N_{откр}/(N_{откр} + N_{закр})$, %
	0.5	**0 (0; 8)***	85 (50; 98)	**0 (0; 1)***	10 (6; 11)	**0 (0; 7)***	**0 (0; 10)***
	1.0	9 (0; 44)	85 (67; 98)	3 (0; 6)	12 (8; 15)	10 (0; 32)	24 (0; 29)
	5.0	10 (0; 50)	86 (59; 113)	2 (0; 7)	11 (7; 14)	8 (0; 44)	14 (2; 44)
	p (ANOVA)	0.0969	0.0291	0.0803	0.0241	0.1029	0.0864
ГМЛ-112	0.1	3 (0; 13)	71 (39; 101)	1 (0; 2)	8 (7; 9)	2 (0; 14)	5 (0; 17)
	0.5	13 (7; 37)	80 (63; 91)	3 (1; 6)	10 (8; 12)	16 (8; 31)	19 (6; 37)
	1.0	**0 (0; 2)***	53 (33; 80)	**0 (0; 1)***	**7 (3; 8)****	**0 (0; 3)***	**0 (0; 13)***
	5.0	0 (0; 5)	55 (25; 98)	0 (0; 2)	6 (3; 13)	0 (0; 7)	0 (0; 15)
	p (ANOVA)	0.0225	0.3859	0.0582	0.0126	0.0261	0.0961
Контроль для ГМЛ-11, ГМЛ-102 и ГМЛ-113-115	–	1,00 (0,00; 5,50)	165,50 (144,50; 171,50)	0,50 (0,00; 1,00)	11,00 (9,50; 15,00)	0,70 (0,00; 3,71)	4,55 (0,00; 10,00)
ГМЛ-11	0.1	2,00 (0,00; 12,50)	**181,00 (166,00; 192,00)***	0,00 (0,0; 2,00)	11,00 (10,5; 13,0)	1,09 (0,00; 6,94)	0,00 (0,00; 17,2)
	0.5	4,00 (1,00; 6,50)	**195,00 (187,50; 203,00)***	1,00 (0,50; 1,00)	10,50 (9,00; 11,50)	2,08 (0,47; 3,19)	8,33 (3,57; 9,55)
	1.0	**41,00 (26,50; 57,50)***	154,00 (137,00; 165,50)	**3,50 (2,00; 5,50)***	**8,00 (7,50; 9,00)***	**20,45 (15,14; 27,72)***	**33,33 (19,09; 40,83)***
	5.0	**46,50 (30,50; 67,50)***	**141,00 (127,50; 152,00)***	**4,50 (3,00; 5,00)***	10,00 (9,00; 10,50)	**25,92 (16,36; 33,27)***	**29,71 (24,87; 33,33)***
	p (ANOVA)	0,0000	0,0001	0,0000	0,0052	0,0000	0,0000
ГМЛ-102	0.1	**47,50 (30,50; 57,00)***	163,50 (158,50; 176,00)	**3,50 (2,00; 5,50)***	10,00 (8,00; 12,00)	**21,93 (15,70; 25,77)***	**22,65 (17,69; 42,26)***
	0.5	**20,50 (17,50; 34,00)***	163,00 (154,50; 172,50)	**2,50 (2,00; 3,50)***	10,00 (8,50; 10,50)	**10,82 (9,90; 17,43)***	**20,63 (16,03; 27,92)***
	1.0	**50,00 (36,50; 59,50)***	165,00 (155,50; 170,50)	**4,00 (2,50; 5,50)***	10,00 (8,50; 11,00)	**24,33 (17,79; 26,15)***	**30,09 (19,87; 35,42)***
	5.0	**17,50 (13,50; 29,50)***	165,50 (152,00; 173,00)	**3,00 (2,00; 3,50)***	**9,00 (8,00; 10,50)***	**9,96 (7,62; 14,74)***	**23,21 (19,09; 31,67)***
	p (ANOVA)	0,0000	0,9561	0,0009	0,3831	0,0001	0,0020
ГМЛ-113	0.1	0,00 (0,00; 1,50)	**186,00 (170,50; 196,50)***	0,00 (0,00; 0,50)	12,00 (11,00; 13,50)	0,00 (0,00; 0,75)	0,00 (0,00; 4,17)
	0.5	**9,50 (5,00; 20,00)***	161,50 (137,50; 182,50)	**2,00 (1,00; 4,00)***	11,50 (10,00; 12,00)	**5,15 (3,18; 9,74)***	**14,84 (9,09; 23,61)***
	1.0	**42,50 (26,50; 88,50)***	**134,00 (107,50; 140,50)***	**4,00 (2,50; 5,00)***	11,50 (9,50; 12,50)	**24,04 (15,18; 47,71)***	**23,61 (17,69; 35,90)***
	5.0	**48,50 (33,00; 62,50)***	145,50 (123,00; 163,00)	**4,00 (2,50; 5,50)***	12,00 (8,50; 13,50)	**23,60 (17,12; 32,22)***	**27,78 (15,26; 36,88)***

Соединение	Доза, мг/кг	Время в открытых рукавах, с	Время в закрытых рукавах, с	Число заходов в открытые рукава	Число заходов в закрытые рукава	$T_{откр}/(T_{откр}+T_{закр})$, %	$N_{откр}/(N_{откр}+N_{закр})$, %
	p (ANOVA)	0,0000	0,0021	0,0001	0,8405	0,0000	0,0002
ГМЛ-114	0.1	1,00 (0,00; 7,00)	**187,00 (173,00; 193,50)***	0,50 (0,00; 1,50)	12,50 (12,00; 15,00)	0,50 (0,00; 3,60)	3,85 (0,00; 9,72)
	0.5	2,00 (0,00; 12,50)	170,50 (154,00; 181,00)	0,50 (0,00; 2,00)	10,00 (8,50; 12,50)	0,92 (0,00; 6,97)	3,85 (0,00; 19,09)
	1.0	**20,00 (13,50; 33,00)***	164,50 (141,50; 187,50)	**2,00 (2,00; 4,50)***	13,50 (12,00; 14,00)	**10,60 (7,06; 18,74)***	**13,39 (11,81; 24,92)***
	5.0	**80,50 (65,50; 94,50)***	130,00 (118,00; 163,50)	6,50 (5,00; 8,50)	**10,00 (8,50; 11,00)***	**38,31 (28,61; 45,36)***	**42,02 (35,90; 43,65)***
	p (ANOVA)	0,0000	0,0238	0,0000	0,0091	0,0000	0,0001
ГМЛ-115	0.1	2,50 (0,00; 12,00)	180,00 (166,50; 200,50)	0,50 (0,00; 1,50)	11,50 (9,50; 14,00)	1,45 (0,00; 6,51)	5,00 (0,00; 11,11)
	0.5	**14,50 (6,50; 23,00)***	**178,00 (172,50; 186,00)***	**2,00 (1,00; 3,00)***	9,50 (8,50; 10,00)	**7,64 (3,42; 11,57)***	**16,23 (11,25; 22,50)***
	1.0	**18,00 (7,50; 36,00)***	152,50 (145,00; 160,50)	**2,50 (1,00; 3,00)***	9,00 (6,50; 11,00)	**9,98 (4,53; 19,97)***	**20,78 (9,09; 31,67)***
	5.0	8,50 (1,00; 24,00)	**190,50 (181,00; 214,50)***	2,00 (0,50; 2,50)	11,50 (9,50; 12,50)	4,67 (0,47; 11,13)	13,81 (3,85; 17,89)
	p (ANOVA)	0,0159	0,0004	0,0278	0,1699	0,0167	0,0311
Контроль для диазепама		35,25 (23,84)	168,50 (33,99)	2,50 (0,93)	5,75 (1,39)	16,55 (7,97)	30,16 (8,49)
Диазепам	1.0	**74,88* (43,89)**	142,38 (25,52)	**4,13* (1,13)**	6,25 (2,76)	**33,23* (12,72)**	**41,67* (13,55)**
	p (ANOVA)	0,0087	0,0742	0,0107	0,8731	0,0063	0,1141

Примечания: Данные для ГМЛ-1 и ГМЛ-3 представлены в виде M(SD), где M-среднее арифметическое; SD-стандартное отклонение; а для остальных веществ в виде Me (q25; q75), где Me — медиана, q25 и q75 — нижний и верхний квартили; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$: достоверные различия с контролем согласно критерию Манна–Уитни по сравнению с группой «Контроль». *p* (ANOVA)– p-значение по результатам теста Краскела-Уоллеса. $T_{откр}$ и $T_{закр}$ – время пребывания в открытых и закрытых рукавах; $N_{откр}$ и $N_{закр}$ – число заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта.

В результате проведенных исследований [331–333, 338–340] было установлено, что наибольшей активность в тесте ПКЛ обладают следующие соединения (таблица 5): ГМЛ-1 (в дозах 0.1-1.0 мг/кг); ГМЛ-3 (в дозах 0.1-0.5 мг/кг); ГМЛ-11 (в дозах 1.0-5.0 мг/кг); ГМЛ-12 (в дозах 0.1-5.0 мг/кг); ГМЛ-102 (в дозах 0.1-5.0 мг/кг); ГМЛ-113 (в дозах 0.5-5.0 мг/кг); ГМЛ-114 (в дозах 1.0-5.0 мг/кг) и ГМЛ-115 (в дозах 0.5-1.0 мг/кг). В меньшей степени активность была выявлена у соединения ГМЛ-107 (в дозе 0.1 мг/кг; в дозах 0.5-5.0 мг/кг – тенденция к активности). Соединения ГМЛ-108 и ГМЛ-110 были неактивными в тесте ПКЛ. Соединения ГМЛ-109 и ГМЛ-112 в дозе 1.0 мг/кг и соединение ГМЛ-111 в дозе 0.5 мг кг/кг статистически значимо по сравнению с контрольной группой уменьшали время пребывания мышей ICR в открытых рукавах лабиринта, число заходов в открытые рукава,

время (%) пребывания в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах и число (%) заходов в открытые рукава по отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта. Снижение двигательной и исследовательской активности мышей в тесте ПКЛ на фоне применения указанных соединений может свидетельствовать о наличии в спектре их фармакологической активности седативного или анксиогенного компонента. Следует отметить, что выраженность анксиолитического эффекта соединений во многих случаях не уступала препарату сравнения диазепаму (1 мг/кг).

2.1.3.3. Анализ связи «структура-анксиолитическая активность» в ряду соединений 2.1.1.

В таблице 6 приведены сводные данные по исследованию анксиолитической активности 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов в тестах ОП и ПКЛ. Для проведения анализа связи «структура-анксиолитическая активность» в этом ряду нами было сделано допущение, заключающееся в том, что анксиолитическая активность в этих тестах является сопоставимой. Это допущение подтверждается тем фактом, что практически во всех случаях, когда соединения исследовались в обоих тестах, их активность дублировалась в сходном интервале доз. Например, соединение ГМЛ-1 было активным в интервале доз от 0.1 до 1.0 мг/кг в обоих тестах; соединение ГМЛ-3 – в интервале доз 0.1-0.5 мг/кг также в обоих тестах.

При общей оценке результатов скрининговых исследований следует отметить, что большая часть веществ показали наличие анксиолитического действия в одной или нескольких дозах в пределах от 0.05 до 5.0 мг/кг.

Также были определены следующие общие закономерности: (1) в амидной группе предпочтительнее использование объемных и липофильных заместителей, обеспечивающих более высокие расчетные значения LogP и LogBB; (2) результаты молекулярного докинга имеют корреляцию с *in vivo* активностью: активные молекулы имеют большие значения теоретической аффинности. Количественно эти результаты выражены в таблице 7. В ней представлены средние арифметические значения параметров «Docking Score», LogP и LogBB для 18 соединений, показавших наличие анксиолитической активности и для 11 соединений без противотревожного действия.

Для активных соединений средние значения «Docking Score», LogP и LogBB составили -9.16; 4.96 и -0.22, соответственно. Для неактивных соединений эти параметры оказались равными -8.89; 4.63 и 0.30, соответственно. Интересно отметить, что для всех этих параметров различие между активными и неактивными молекулами составило около 0.3.

Таблица 6. Сводная таблица по анксиолитической активности производных пирроло[1,2-*a*]пиразинов **2.1.1**.

Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	DS	LogP	Активные дозы в ОП (мг/кг)	Активные дозы в ПКЛ (мг/кг)
ГМЛ-1	Me	Bn	H	H	-9.622	5.074	0.1-1.0	0.1-1.0
ГМЛ-2	Me	*n*-Bu	Cl	H	-9.016	4.792	0.5	н.и.
ГМЛ-3	Me	*n*-Bu	H	H	-8.282	4.508	0.1-0.5	0.1-0.5
ГМЛ-4	Me	*n*-Bu	F	H	-9.057	4.707	5.0	н.и.
ГМЛ-5	Me	*n*-Bu	Br	H	-8.949	4.939	-	н.и.
МЛ-291	Me	*i*-Bu	H	H	-8.279	4.358	н.и.	н.и.
ГМЛ-6	Me	*sec*-Bu	H	H	-8.253	4.345	-	н.и.
ГМЛ-7	H	Bn	H	H	-9.590	4.877	1.0	н.и.
ГМЛ-8	H	Me	H	H	-8.147	3.189	-	н.и.
ГМЛ-9	Me	Bn	F	H	-10.150	5.316	н.и.	н.и.
ГМЛ-10	Me	Bn	Cl	H	-10.334	6.034	н.и.	н.и.
ГМЛ-11	Ph	Bn	H	H	-10.215	4.707	0.05-0.1	1.0-5.0
ГМЛ-12	*n*-Pr	*n*-Pr	H	H	-8.999	4.826	0.1-1.0	0.1-5.0
ГМЛ-21	Ph	Me	H	H	-7.223	4.764	0.05-1.0	н.и.
ГМЛ-22	Ph	Et	H	H	-7.105	4.961	0.1-1.0	н.и.
ГМЛ-23	Ph	*n*-Bu	H	H	-8.397	5.391	-	н.и.
ГМЛ-24	Ph	H	H	H	-9.085	4.597	-	н.и.
ГМЛ-101	Et	Bn	H	H	-10.144	5.433	1.0	н.и.
ГМЛ-102	$CHPh_2$	H	H	H	-9.551	6.506	0.1-1.0	0.1-5.0
ГМЛ-103	Bn	Bn	H	H	-9.278	5.993	-	н.и.
ГМЛ-104	$(CH_2)_2Ph(OMe)_2$-3,4	H	H	H	-9,404	5.032	т.: 0.1-5.0	н.и.
ГМЛ-105	$CH_2Ph(OMe)_3$-3,4,5	H	H	H	-9.391	4.786	т.: 0.1-1.0	н.и.
ГМЛ-106	*L*-Phe-OMe	H	H	H	-10.208	5.163	1.0-5.0	н.и.
ГМЛ-107	-$(CH_2)_7$-		H	H	-9.193	4.398	н.и.	0.1; т.: 0.5–5.0
ГМЛ-108	*L*-Glu-OEt	H	H	H	-9.125	4.310	н.и.	-
ГМЛ-109	*L*-Asp-OEt	H	H	H	-9.603	4.001	н.и.	[1.0]
ГМЛ-110	*L*-Ala-OMe	H	H	H	-8.726	3.689	н.и.	-
ГМЛ-111	*L*-Trp-OEt	H	H	H	-8.083	5.743	н.и.	[0.5]
ГМЛ-112	*D*-Tyr-OEt	H	H	H	-10.119	4.874	н.и.	[1.0]
ГМЛ-113	*L*-Phe-OH	H	H	H	-10.095	5.126	н.и.	0.5–5.0
ГМЛ-114	Me	Bn	H	Br	-8.702	5.636	н.и.	1.0-5.0
ГМЛ-115	Me	Bn	H	CHO	-9.163	4.012	н.и.	0.5–1.0

Примечание. DS – «Docking score» – характеристика энергии связывания “лиганд–рецептор” в молекулярном докинге LogP – показатель липофильности на разделе фаз октанол/вода; ОП – тест «открытое поле»; ПКЛ – тест «приподнятый крестообразный лабиринт»;
н.и. – не изучалось; т. – тенденция к активности; [] – обратная активность (протревожная)

Таблица 7. Сопоставление расчетных характеристик для активных и неактивных производных 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1**

Параметр	Активные вещества	Неактивные вещества	Различие между активными и неактивными
Docking Score	-9.16	-8.89	0.28
LogP	4.96	4.64	0.32
LogBB	-0.22	-0.53	0.30

Для анализа «структура активность» полученные вещества были разделены на 4 подгруппы: (1) *N*-арилалкильные; (2) *N,N*-диалкильные; (3) *N*-фенильные и (4) аминокислотные производные (схема 9). В целом первые три группы веществ оказались более эффективными, чем четвертая. В группах 1 и 2 более активными были молекулы, не содержащие заместителей в фенильном заместителе при пиразиновом кольце. В качестве заместителя R^1 в группе 1 предпочтительно было использование метильной группы, а в качестве второго заместителя при амидном атоме азота – бензильной или бензгидрильной группы. Удлинение цепи, связывающей атом азота с фенильном кольцом, или введение в него алкокси-заместителей приводило к исчезновению анксиолитического действия. Введение в 5-ое положение пиррольного кольца электроноакцепторных групп (атом брома, альдегидная группа) приводит к сохранению активности соответствующих молекул.

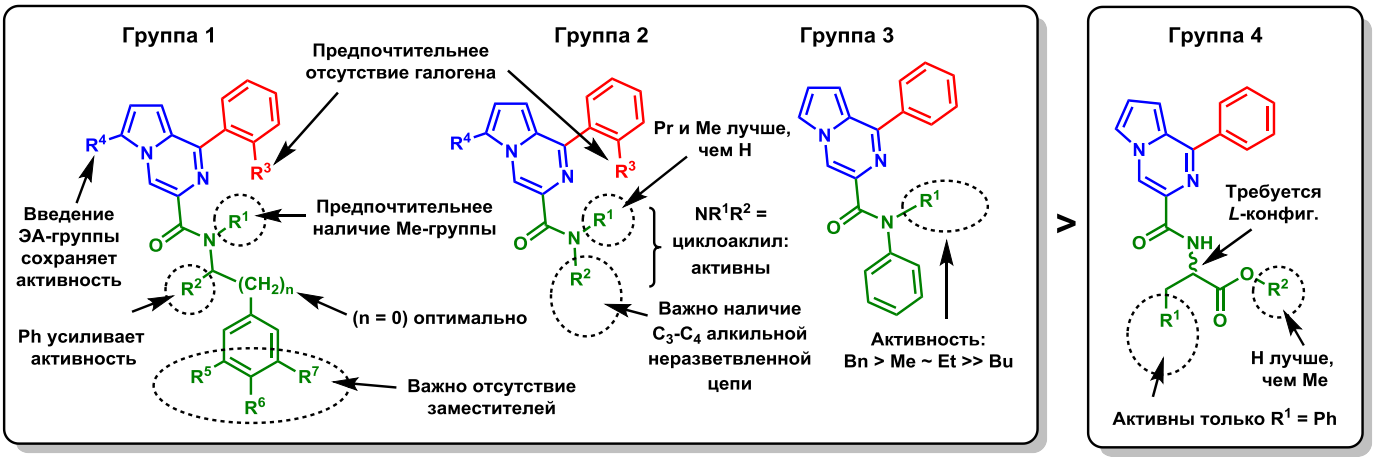


Схема 9. Анализ связи «структура-активность» в ряду производных пирроло[1,2-а]пиразина

В группе 2 также предпочтительным было использование третичных амидов, в которых один заместитель являлся метильной или пропильной группой, а второй – неразветвленной пропильной или бутильной группой; также активным было соединение с циклическим гексометилениминовым фрагментом. Среди фенильных производных группы 3 лучшую активность проявляло соединение с бензильным заместителем, также

эффективны были метильное и этильное производное, но при удлинении алкильной цепи до бутильной активность пропадала. Наконец, в группе 4 анксиолитическим действием обладали лишь производные фенилаланина, причем незамещенная кислота была эффективнее, чем ее эфир. Соединениями-лидерами в ряду производных пирроло[1,2-а]пиразина оказались ГМЛ-1, ГМЛ-3, ГМЛ-11, ГМЛ-12, ГМЛ-102, ГМЛ-113 и ГМЛ-114 (активны в интервале доз 0.1-5.0 мг/кг). Эти вещества далее анализировались на наличие антидепрессивной активности.

Наиболее перспективным соединением для дальнейшего развития в качестве потенциального анксиолитического средства явилось ГМЛ-1. Помимо того, что это вещество обладало выраженной анксиолитической активностью в тестах ОП и ПКЛ в интервале доз от 0.1 до 1.0 мг/кг, оно обладало хорошими физико-химическими свойствами, для его синтеза требовались доступные и недорогие исходные соединения.

2.1.3.4. Анализ антидепрессивной активности соединений 10 в тесте «подвешивание за хвост».

Изучение антидепрессивной активности 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1** осуществлялось в тесте «подвешивание за хвост» у мышей CD-1 при в/б введении (таблица 8) [342]. В этом тесте регистрировали суммарное время неподвижности мыши, пытающейся избежать подвешивания. При этом снижение длительности иммобилизации у животных опытных групп по сравнению с контролем расценивалось как наличие антидепрессивных свойств у вещества. В тесте «подвешивание за хвост» оценивались соединения, показавшие лучшие результаты в скрининге анксиолитического действия.

Установлено [343, 344], что статистически значимым антидепрессивным действием обладали соединения: ГМЛ-3 в интервале доз 0.5-5.0 мг/кг; ГМЛ-11 в дозе 1.0 мг/кг; ГМЛ-102 в дозе 5.0 мг/кг; ГМЛ-113 в дозе 1.0 мг/кг. Активность веществ была сопоставима с действием известного антидепрессанта амитриптилина в дозах 7.0-10.0 мг/кг. Активность на уровне тенденции наблюдалась в различных дозах для всех исследованных веществ, за исключением ГМЛ-114. Из этого можно сделать вывод, что замещение по 5-ому положению пиррольного кольца приводит к исчезновению антидепрессивной активности в изучаемом ряду. Следует также отметить, что в условиях использованного тестах не фиксировалась активность препарата диазепама в дозе 1.0 мг/кг.

Соединением-лидером с точки зрения антидепрессивной активности явилось вещество ГМЛ-3, которые было активным в интервале доз от 0.5 до 5.0 мг/кг. Оно было отобрано для дальнейших исследований в качестве потенциального антидепрессанта.

Таблица 8. Антидепрессивная активность 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов **2.1.1** в тесте «подвешивание за хвост»

Соединение	**Дозы, мг/кг**	**n**	**Период неподвижности, с**
Контроль для ГМЛ-1 и ГМЛ-3			55,07 (24,13)
ГМЛ-1	0,1	8	37,53 (32,59)
	0,5	8	*36,93 (27,55)*
	1,0	8	52,93 (42,10)
	5,0	8	*36,90 (21,07)*
	p(ANOVA)		0,0128
ГМЛ-3	0,1	8	54,37 (52,59)
	0,5	8	**19,93 (21,89)***
	1,0	8	**24,73 (24,81)***
	5,0	8	**19,73 (14,57)***
	p(ANOVA)		0,0021
Амитриптилин	7,0	8	**16,33 (25,09)***
Диазепам	1,0	8	79,10 (49,88)
Контроль для ГМЛ-11, ГМЛ-12, ГМЛ-102, ГМЛ-113, ГМЛ-114			44,28 (36,63)
ГМЛ-11	0,5	9	*11,57 (16,89)*
	1,0	9	**7,9 (13,36)***
	2,5	8	*12,53 (18,85)*
	5,0	9	56,4 (62,3)
	p(ANOVA)		0,0005
ГМЛ-12	1,0	10	36,72 (48,4)
	2,5	10	35,88 (33,89)
	5,0	10	*27,81 (39,39)*
	10,0	10	50,46 (35,86)
	p(ANOVA)		0,039
ГМЛ-102	0,5	10	*25,26 (26,88)*
	1,0	10	*21,15 (19,38)*
	2,5	10	*24,84 (27,76)*
	5,0	9	**13,47 (35,89)***
	p(ANOVA)		0,002
ГМЛ-113	0,5	10	*26,61 (17,33)*
	1,0	9	**6,23 (7,37)***
	2,5	10	*20,73 (24,7)*
	5,0	10	*26,01 (27,88)*
	p(ANOVA)		0,039
ГМЛ-114	1,0	9	36,47 (30,12)
	2,5	10	42,19 (31,75)
	5,0	10	55,47 (52,81)
	p(ANOVA)		0,0081
Амитриптилин	10,0	15	**9,02 (10,22)***

Примечание – Данные представлены в виде M(SD), где M-среднее арифметическое; SD-стандартное отклонение; * - статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с группой «Контроль» согласно критерию Манна-Уитни. *P*(ANOVA) – p-значение по результатам теста Краскела-Уоллеса. N – количество животных в группе

2.1.3.5. Изучение нейропротекторной активности ГМЛ-1 и ГМЛ-3 на модели оксидативного стресса[1]

Известно, что TSPO помимо ключевой роли в нейростероидогенезе, также участвует в ряде митохондриальных функций, таких как производство АТФ, образование активных форм кислорода и митохондриальная поляризация (ΔΨm) [345].

Для ряда лигандов TSPO продемонстрирован нейропротекторный эффект за счет снижения активации микроглии в модели нейродегенерации у крыс [346]. Также установлено, что лиганды TSPO могут воздействовать на формирование митохондриальной поры (mPTP), которая вызывает митохондриальное набухание и гибель клеток, обеспечивая прохождение ионов и белков между митохондриями и цитозолем [58, 347]. Хотя точная структура mPTP все еще остается неясной, многие исследования показывают, что mPTP представляет собой мультибелковый комплекс, состоящий из циклофилина D (CypD), потенциал-зависимого анионного канала 1 типа (VDAC1) и TSPO. Соединения, нацеленные на CypD [348] и TSPO, продемонстрировали нейропротекторную активность, блокируя образование mPTP, особенно при Аβ-индуцированной митохондриальной дисфункции [349, 350].

Некоторые лиганды TSPO восстанавливали ΔΨm и продукцию АТФ, нарушенную обработкой Аβ *in vitro* [351], а также улучшали когнитивные функции у трансгенных мышей в модели болезни Альцгеймера [352]. Другое исследование также показало, что лиганды TSPO могут ингибировать образование активных форм кислорода, блокируя взаимодействие между TSPO и VDAC1 [353]. Все эти данные свидетельствуют о том, что TSPO является многообещающей биомишенью для лечения нейродегенеративных расстройств.

В связи с этим нами была произведена первичная оценка нейропротекторной активности соединений-лидеров ГМЛ-1 и ГМЛ-3 *in vitro*. Для этого была использована модель окислительного стресса в культуре гиппокампальных клеток мыши линии HT-22, индуцированного перекисью водорода.

[1] Исследования выполнены в соавторстве с к.б.н. Т.А. Антиповой (отдел фармакологической генетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)

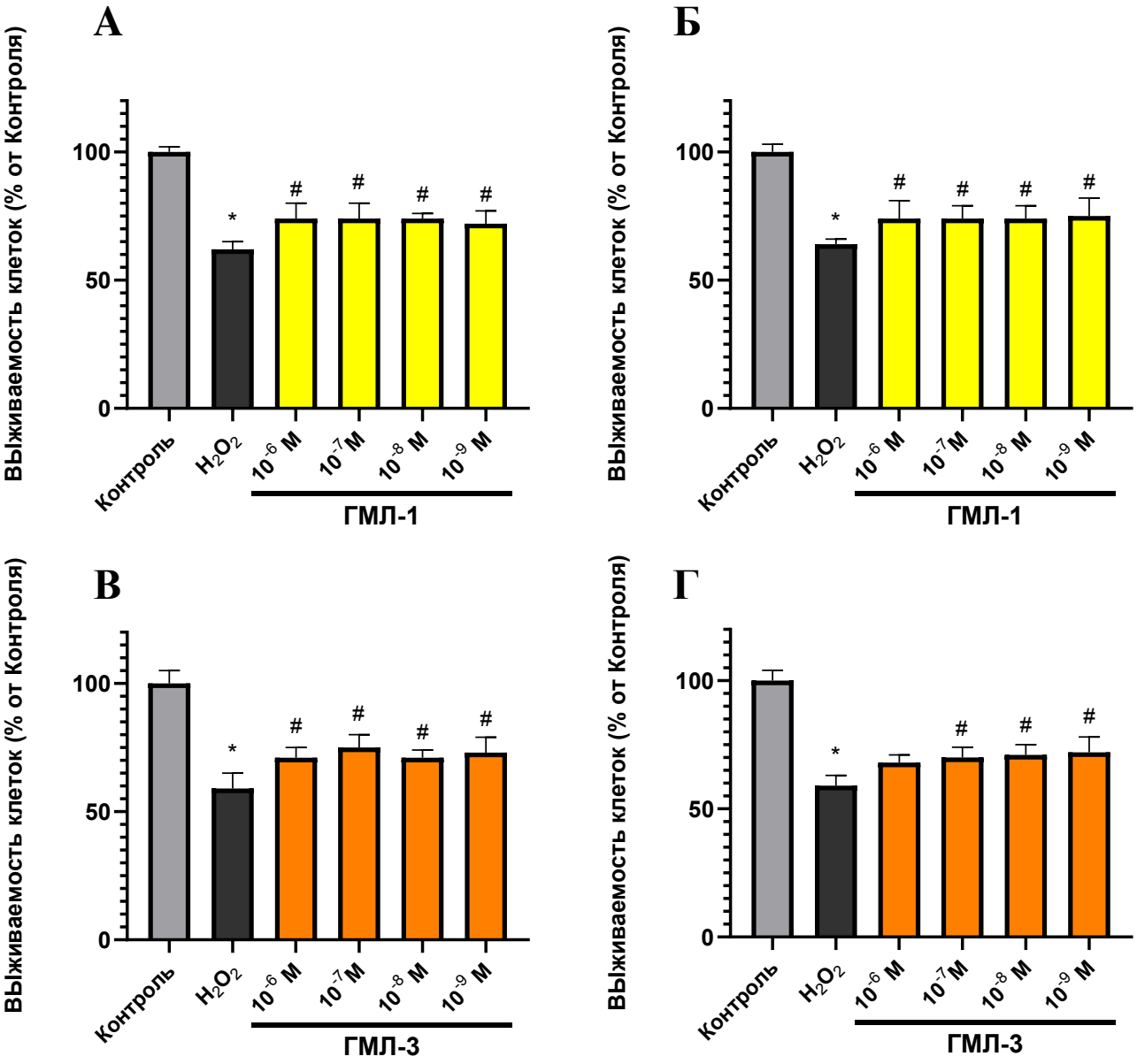


Рисунок 80. Нейропротекторное действие соединений ГМЛ-1 (А и Б) и ГМЛ-3 (В и Г) на модели повреждения клеток гиппокампа мыши линии HT-22, индуцированного перекисью водорода. Внесение за 24 ч до перекиси водорода (А и В) и сразу после смены среды (Б и Г). Данные МТТ-теста. Примечания: * — $p \leq 0{,}05$ — от Контроля; # — $p \leq 0.05$ от H_2O_2 (критерий Краскела–Уоллиса с последующим тестом по Данну).

Внесение исследуемых соединений осуществлялось за 24 ч до перекиси водорода и сразу после смены среды. При этом в обоих случаях ГМЛ-1 и ГМЛ-3 статистически значимо защищали клетки от повреждения. При внесении перекиси водорода в концентрации 1,5 мМ происходила гибель 59-62% клеток HT-22 в сравнении с контролем. Соединение ГМЛ-1 увеличивало жизнеспособность клеток во всем интервале концентраций от 10^{-6} до 10^{-9} М на 25-28% по сравнению с перекисью водорода, как при внесении за 24 ч до H_2O_2 (рис. 80А), так и сразу после смены среды (рис. 80Б). Соединение ГМЛ-3 при внесении за 24 ч до перекиси водорода также увеличивало жизнеспособность клеток во всем интервале концентраций от 10^{-6} до 10^{-9} М (рис. 80В). При внесении

соединения ГМЛ-3 сразу после отмывки перекиси оно статистически значимо увеличивало жизнеспособность клеток в интервале концентраций 10^{-7} – 10^{-9} М до 70-72% (рис. 80Г).

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало, что оригинальные лиганды TSPO ГМЛ-1 и ГМЛ-3 в широком интервале концентраций обладают нейропротекторными свойствами на *in vitro* модели окислительного стресса, вызванного перекисью водорода на культуре гиппокампальных клеток мышей линии НТ-22.

2.1.3.6. Изучение ноотропной активности соединения ГМЛ-1[1]

Известно, что классические анксиолитики бензодиазепины имеют существенный побочный эффект, заключающийся в нарушениях памяти [354]. В то же время нейростероиды, модулируя действие $ГАМК_А$-рецептора, помимо других нейропсихотропных эффектов, напротив, предотвращают нарушения памяти [124]. В связи с этим нами была исследована ноотропная (мнемотропная) активность соединения ГМЛ-1 в тесте «распознавание нового объекта» в условиях скополаминовой амнезии путем изучения влияния ГМЛ-1 на рабочую память беспородных крыс-самцов [343, 344].

Для оценки рабочей памяти крыс использовали коэффициент дискриминации (КД), который рассчитывали по формуле: КД=(а-б)/(а+б), где а – время исследования нового объекта во время теста (с), а б – время исследования знакомого объекта во время теста (с). Этот коэффициент отражает рабочую память крыс [355].

Таблица 9. Противодействие ГМЛ-1 скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта.

Группа	КД
Контроль	0.79
ГМЛ-1 (0.05 мг/кг) + скополамин (0.2 мг/кг)	0.63#
ГМЛ-1 (0.1 мг/кг) + скополамин (0.2 мг/кг)	0.64#
ГМЛ-1 (0.5 мг/кг) + скополамин (0.2 мг/кг)	0.71#
Скополамин (0.2 мг/кг)	0.08*
Примечания. КД – коэффициент дискриминации, рассчитанный по формуле: КД = (а б)/(а+б), где а – время исследования нового объекта во время теста (с), а б – время исследования знакомого объекта во время теста (с); в каждой группе было по десять животных; *$p < 0.001$ по сравнению с контролем; #$p < 0.005$ по сравнению с группой «скополамин» (U-тест Манна-Уитни с поправкой Бонферрони).	

[1] Исследования выполнены в соавторстве с к.б.н. П.Ю. Поварниной (отдел химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Установлено, что контрольные животные значительно больше времени исследовали новый объект, чем знакомый. Введение скополамина заметно нарушало способность животных к распознаванию объектов, что выражалось в снижении времени исследования нового объекта по отношению к суммарному времени исследования нового и знакомого объектов во время теста (коэффициент дискриминации – КД) в 10 раз. Показано, что соединение ГМЛ-1 в дозах 0.05-0.5 мг/кг при в/б введении статистически значимо противодействовал скополаминовой амнезии в тесте «распознавание нового объекта» на беспородных крысах-самцах, увеличивая КД почти до контрольных значений (таблица 9), демонстрируя, таким образом, ноотропный (мнемотропный) эффект.

2.1.4. Изучение механизмов действия соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3

2.1.4.1. Радиолигандный анализ соединений-лидеров ГМЛ-1 и ГМЛ-3[1]

Для доказательства лигандных свойств соединений-лидеров ГМЛ-1 и ГМЛ-3 в отношении TSPO и их отсутствия в отношении $ГАМК_A$-рецептора были проведены радиолигандные исследования, в которых оценивалась способность этих соединений вытеснять высокоаффинные лиганды нейрорецепторов из их мест связывания.

Взаимодействие ГМЛ-1 и ГМЛ-3 с TSPO рецепторами изучали на клетках глиомы мозга человека (U-118 MG Line). В качестве меченого лиганда использовался [^{3}H]PK11195 в концентрации 0.2 нМ. Препаратом сравнения служил PK11195 ($IC_{50} = 1.1 \cdot 10^{-8}$ М, $K_i = 1{,}1 \cdot 10^{-8}$ М)..

Взаимодействие веществ с $ГАМК_A$-рецепторами изучали на ткани мозга крысы с применением [^{3}H]флунитразепама в концентрации 0.4 нМ. В качестве препарата сравнения использовали диазепам ($IC_{50} = 9.1 \cdot 10^{-9}$ М, $K_i = 7.6 \cdot 10^{-9}$ М).

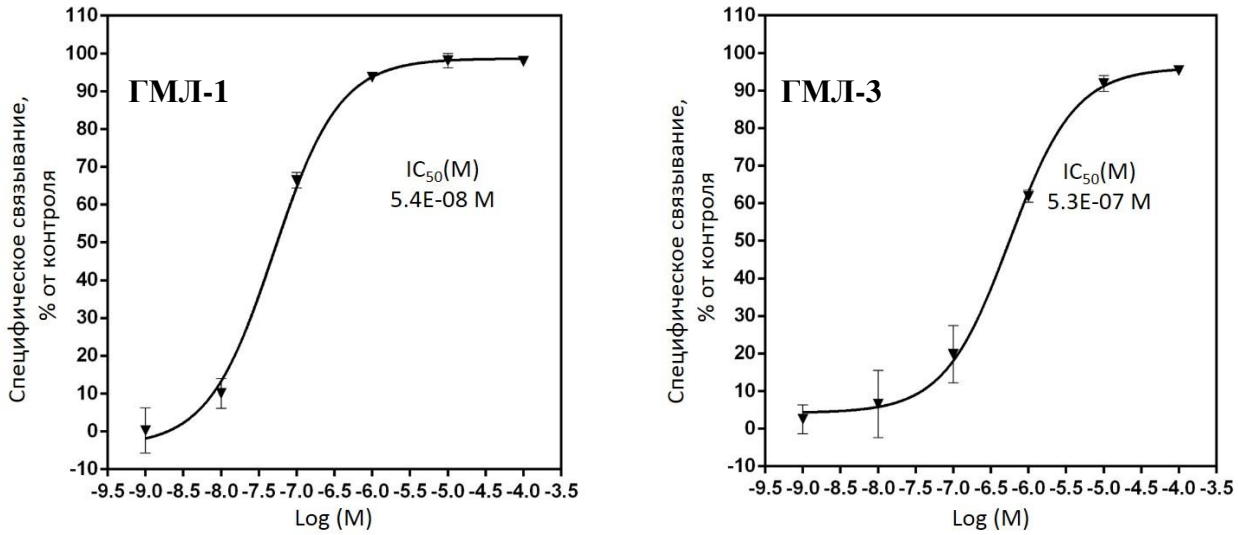


Рисунок 81. Радиолигандный анализ соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 в отношении TSPO

[1] Радиолигандные исследования выполнены в компании Cerep Eurofins Panlab (Франция)

Установлено, что оба соединения ГМЛ-1 и ГМЛ-3 взаимодействуют с TSPO, причем величина IC_{50} для ГМЛ-1 составила $5.4 \cdot 10^{-8}$ М ($K_i = 5.2 \cdot 10^{-8}$ М), для ГМЛ-3 – $IC_{50} = 5.6 \cdot 10^{-7}$ М ($K_i = 5.3 \cdot 10^{-7}$ М) (рис. 81) [331, 339]. Полученные данные позволили отнести ГМЛ-1 и ГМЛ-3 к группе высокоаффинных лигандов TSPO.

Соединение ГМЛ-1 в концентрациях до 10^{-5} М не вытесняло [^{3}H]флунитразепам, что свидетельствовало об отсутствии какого-либо связывания с бензодиазепиновым сайтом $ГАМК_A$-рецептора. Это свидетельствует о селективности пирроло[1,2-*a*]пиразиновых лигандов TSPO в отношении $ГАМК_A$-рецептора и об отсутствии ГАМК-эргического компонента в реализации их биологических эффектов.

2.1.4.2. Доказательство TSPO-эргического механизма биологических эффектов ГМЛ-1 и ГМЛ-3[1]

Известно, что вещество PK11195 (1-(2-хлорфенил)-*N*-метил-(1-метилпропил)-3-изохинолинкарбоксамид) является специфическим ингибитором, связывающимся с рецепторным участком TSPO и при совместном введении с лигандами TSPO блокирует их анксиолитический эффект [80, 85].

С целью изучения зависимости эффекта соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 от взаимодействия на участке связывания TSPO были проведены эксперименты по оценке биологической активности этих веществ после предварительного введения PK11195 [331, 339, 343].

В первом эксперименте соединение ГМЛ-1 в дозе 0.5 мг/кг и соединение ГМЛ-3 в дозе 0.1 мг/кг вызывали выраженный анксиолитический эффект у мышей CD-1 в тесте ПКЛ, статистически значимо увеличивая время нахождения в открытых рукавах лабиринта по сравнению с контрольной группой (таблица 10). PK11195 в дозе 10.0 мг/кг блокировал анксиолитический эффект ГМЛ-1 и ГМЛ-3, что отражалось в уменьшении времени нахождения в открытых рукавах. При этом анксиолитический эффект диазепама (1.0 мг/кг) не изменялся под воздействием PK11195.

Во втором эксперименте в тесте «подвешивание за хвост» предварительное введение блокатора PK11195 также значимо препятствовало антидепрессивному эффекту препарата ГМЛ-3 в дозе 0.5 мг/кг, увеличивая время неподвижности животных почти до контрольных значений (таблица 11) [343].

Таким образом, было получено доказательство того, что анксиолитическое действие ГМЛ-1 и ГМЛ-3, а также антидепрессивная активность ГМЛ-3 обусловлены взаимодействием этих веществ с TSPO.

[1] Исследования выполнены в соавторстве с д.м.н., проф. М.А. Ярковой (отдел фармакологической генетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Таблица 10. Влияние специфического ингибитора TSPO – соединения РК11195, на анксиолитический эффект ГМЛ-1 и ГМЛ-3

Группы	Количество животных в группе	Время, проведенное в открытых рукавах, с	Число заходов в открытых рукава	% времени в открытых рукавах	% заходов в открытые рукава
КИ+КИ	8	41,50 (15,99)	3,13 (2,23)	23,87 (7,58)	25,78 (13,16)
РК11195+КИ	8	30,13 (26,82)	3,00 (2,98)	14,43 (11,82)	22,20 (17,77)
КИ+ ГМЛ-1 0,5 мг/кг	8	**78,50*** (18,59)**	4,75 (1,49)	**41,30*** (5,16)**	36,41 (7,33)
РК11195+ ГМЛ-1 0,5 мг/кг	8	24,63*# (19,71)	2,00# (1,69)	14,28*# (12,68)	18,09# (15,36)
КИ+ ГМЛ-3 0,1 мг/кг	8	56.13 (15.07)	3.50 (0.93)	**41.28*** (6.43)**	31.42 (11.47)
РК11195+ ГМЛ-3 0,1 мг/кг	8	0,38*** (1,06)	0,13*** (0,35)	0,22***### (0,61)	1,14***### (3,21)
КИ + Диазепам 1,0 мг/кг	8	**86,88* (32,37)**	6,50 (4,07)	**40,59* (14,86)**	**40,53* (13,34)**
РК11195+ Диазепам 1,0 мг/кг	8	90,13*** (22,41)	7,38** (3,07)	47,28*** (4,10)	46,84** (4,52)
p(ANOVA)		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Примечания:
Данные представлены в виде M(SD), где M-среднее арифметическое; SD-стандартное отклонение;
КИ-контрольная инъекция дистиллированной воды
% времени в открытых рукавах= 100х(время в открытых рукавах)/(время в открытых рукавах+время в закрытых рукавах)
% заходов в открытые рукава = 100х(число заходов в открытые рукава)/(число заходов в открытые рукава+число заходов в закрытые рукава)
*, **, *** – статистически значимые различия (p<0,05; p<0,01; p<0,001 соответственно) по сравнению с группой «Контроль» согласно критерию Манна-Уитни.
#, ##, ###– достоверные различия (p<0,05; p<0,01; p<0,001 соответственно) между группами «КИ+ГМЛ-1 0,5 мг/кг» и «РК11195+ГМЛ-1 0,5 мг/кг» или «КИ+ГМЛ-3 0,1 мг/кг» и «РК11195+ГМЛ-3 0,1 мг/кг»согласно критерию Манна-Уитни.

Таблица 11. Влияние специфического ингибитора TSPO РК11195 на антидепрессивный эффект соединения ГМЛ-3

Группа	**Количество животных в группе**	**Период неподвижности, с**
Контроль (КИ+КИ)	8	105,37 (81,61)
РК11195 (10,00 мг/кг)+КИ	8	100,50 (47,17)
КИ+ГМЛ-3 (0,50 мг/кг)	8	38,28 (41,60) *
РК11195 (10,00 мг/кг)+ ГМЛ-3 (0,50 мг/кг)	8	77,83 (53,62) #
p(ANOVA)		0,0772

Примечания:
Данные представлены в виде M(SD), где M-среднее арифметическое; SD-стандартное отклонение;
КИ-контрольная инъекция дистиллированной воды.
* – статистически значимые различия по сравнению с группой «Контроль» согласно критерию Манна-Уитни. # – достоверные различия между группами «КИ+ГМЛ-3(0,50 мг/кг)» и «РК11195 (10,00 мг/кг)+ГМЛ-3 (0,50 мг/кг)» согласно критерию Манна-Уитни.

2.1.4.3. Доказательство нейростероидэргического механизма биологических эффектов ГМЛ-1 и ГМЛ-3[1]

Для получения дополнительного доказательства участия рецептора TSPO в реализации анксиолитического действия ГМЛ-1 и ГМЛ-3, нами были проведены эксперименты по изучению влияния ингибиторов ферментов, участвующих в каскаде биосинтеза нейростероидов, на эффекты ГМЛ-1 и ГМЛ-3 в тесте ПКЛ [356]. В исследовании были использованы трилостан, являющийся ингибитором фермента 3β-HSD (3β-гидроксистероиддегидрогеназы), и финастерид, ингибирующий фермент 5α-редуктазу (рис. 82). Известно, что анксиолитическая активность лигандов TSPO, реализующих свои эффект через активацию нейростероидогенеза, блокируется действием этих ингибиторов [102].

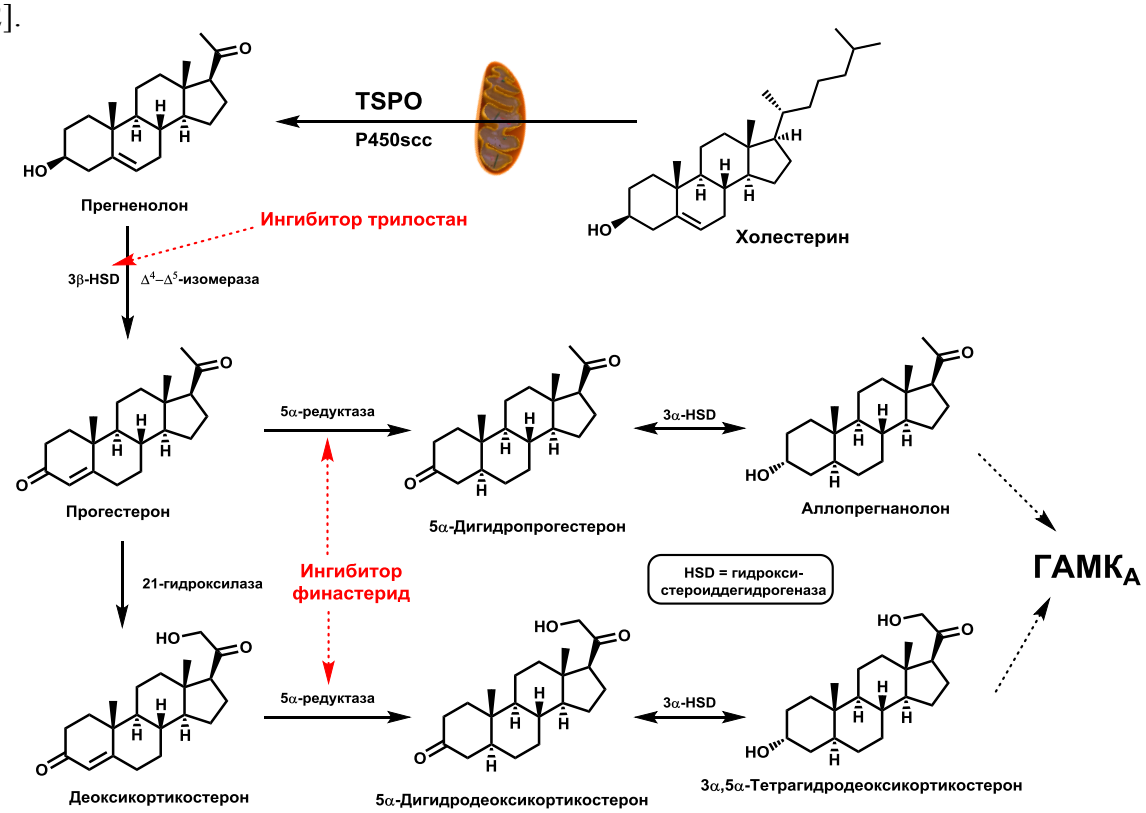


Рисунок 82. TSPO-опосредованный нейростероидогенез и его блокада ингибиторами трилостаном и финастеридом.

Установлено, что соединения ГМЛ-1 и ГМЛ-3 в дозах 0.5 мг/кг обладают ярко выраженным анксиолитическим действием в тесте ПКЛ, достоверно увеличивая время пребывания мышей CD-1 в открытых рукавах, уменьшая время пребывания в закрытых рукавах, увеличивая время (%) пребывания в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах лабиринта, увеличивая число заходов в открытые рукава и увеличивая число (%) заходов в открытые рукава по

[1] Исследования выполнены в соавторстве с д.м.н., проф. М.А. Ярковой (отдел фармакологической генетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта по сравнению с контрольной группой (таблица 12). Трилостан и финастерид в дозах 10 мг/кг, сами по себе не проявляющие каких-либо эффектов в сравнении с контролем, полностью блокировали анксиолитическое действие соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3, изменяя все основные показатели теста ПКЛ до контрольных значений. В свою очередь в аналогичных условиях трилостан и финастерид никак не влияли на анксиолитическую активность диазепама, что выражалось в сохранении всех показателей теста ПКЛ на уровне эффектов диазепама без введения ингибиторов. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о вовлеченности рецептора TSPO и нейростероидов в механизм анксиолитической активности лигандов ГМЛ-1 и ГМЛ-3.

Таблица 12. Влияние ингибиторов ферментов биосинтеза нейростероидов на анксиолитическую активность соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3 в тесте ПКЛ у белых мышей CD-1 при в/б введении

Экспериментальные группы	Время в открытых рукавах, сек	Время в закрытых рукавах, сек	Число заходов в открытые рукава	Число заходов в закрытые рукава	$T_{откр}/(T_{откр}+T_{закр})$, %	$N_{откр}/(N_{откр}+N_{закр})$, %
Контроль	9.50 (14.93)	148.75 (30.56)	0.75 (0.71)	7.75 (1.67)	6.26 (10.75)	8.23 (7.36)
ГМЛ-1 (0.5 мг/кг)	56.13** (15.07)	79.38** (17.32)	3.50*** (0.93)	8.13 (2.64)	41.28** (6.43)	31.42*** (11.47)
ГМЛ-3 (0.5 мг/кг)	50.13** (13.16)	91.88** (25.00)	3.13*** (0.64)	7.50 (2.07)	35.72** (8.85)	30.42*** (9.68)
Диазепам (1.0 мг/кг)	54.00** (12.88)	75.63** (14.14)	3.50*** (0.93)	7.38 (1.85)	41.49** (6.45)	32.83*** (10.35)
Трилостан (10.0 мг/кг)	9.38 (12.20)	131.63 (12.61)	0.63 (0.74)	6.50 (1.60)	5.89 (7.61)	7.18 (7.88)
Трилостан (10.0 мг/кг) + ГМЛ-1 (0.5 мг/кг)	8.50# (13.14)	135.38# (26.69)	0.75# (0.89)	6.63 (1.41)	5.37### (7.93)	8.85# (10.93)
Трилостан (10.0 мг/кг) + ГМЛ-3 (0.5 мг/кг)	20.13^ (22.16)	147.88^ (53.15)	1.13^ (0.99)	6.13 (1.89)	12.58^ (12.35)	15.52^ (10.90)
Трилостан (10.0 мг/кг) + диазепам (1.0 мг/кг)	59.00** (21.20)	109.75* (32.74)	4.25*** (1.04)	6.75 (1.67)	35.58* (14.73)	38.95*** (8.29)
Финастерид (10.0 мг/кг)	11.00 (6.50)	117.38* (18.24)	1.00 (0.53)	6.75 (2.31)	8.72 (4.85)	12.60 (5.71)
Финастерид (10.0 мг/кг) + ГМЛ-1 (0.5 мг/кг)	12.88### (11.76)	132.75 (48.51)	1.38## (0.92)	7.63 (1.30)	10.57## (9.97)	15.05# (10.44)
Финастерид (10.0 мг/кг) + ГМЛ-3 (0.5 мг/кг)	9.75^^^ (6.69)	145.25^^ (27.30)	1.25^^ (0.46)	7.88 (1.46)	5.98^^^ (3.33)	13.91^^ (5.31)
Финастерид (10.0 мг/кг) + диазепам (1.0 мг/кг)	47.88** (11.13)	92.13* (21.91)	3.38** (1.06)	7.50 (3.82)	34.66* (8.51)	33.46** (11.81)

Примечания. Данные представлены в виде M(SD), где M – среднее арифметическое; SD – стандартное отклонение; в каждой группе было по восемь животных; *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001 по сравнению с группой «Контроль»; #p < 0.05, ##p < 0.001, ###p < 0.0001 по сравнению с группой «ГМЛ-1»; ^p < 0.05, ^^p < 0.001, ^^^p < 0.0001 по сравнению с группой «ГМЛ-3» (U-критерий Манна–Уитни).
$T_{откр}$ и $T_{закр}$ – время пребывания в открытых и закрытых рукавах; $N_{откр}$ и $N_{закр}$ – число заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта.

2.1.5. Доклиническая разработка ГМЛ-1 в качестве быстродействующего анксиолитика

В рамках Госпрограммы Фарма 2020 (ГК № 14.N08.12.0087, 2016-2018 гг) в профильных подразделениях ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был успешно проведен практически полный цикл доклинических исследований соединения ГМЛ-1 в качестве быстрого анксиолитика. В таблице 13 кратко приведены результаты различных этапов доклинической разработки ГМЛ-1. Для этого соединения разработана ГЛФ в виде таблеток (лаборатория технологии лекарственных препаратов). Как для АФС, так и для ГЛФ ГМЛ-1 проведен полный набор исследований по специфической анксиолитической активности (выполнены в отделе фармакогенетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»). Помимо анксиолитической у ГМЛ-1 выявлена антидепрессивная, ноотропная и нейропротекторная активности (отдел фармакогенетики и отдел химии; часть данных по активности приведены ранее по тексту). Полностью завершены исследования фармакокинетики (отдел фармакокинетики) и токсикологии (отдел токсикологии) АФС и ГЛФ ГМЛ-1.

Таблица 13. Пройденные этапы доклинической разработки соединения ГМЛ-1 в качестве потенциального быстрого анксиолитика

Специфическая активность АФС и ГЛФ ГМЛ-1 (исследования выполнены в отделе фармакогенетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Тест ПКЛ, АФС ГМЛ-1	Показана анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.1-5.0 мг/кг (однократное п/о введение, мыши ICR)
Тест ОП, АФС ГМЛ-1	Показана анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.01-5.0 мг/кг (однократное п/о введение, мыши Balb/C)
Модель «конфликтная ситуация по Vogel», ГЛФ ГМЛ-1	Показана анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.1-1.0 мг/кг (однократное п/о введение, крысы Wistar)
Тест ПКЛ, ГЛФ ГМЛ-1	Показана анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.1-5.0 мг/кг (однократное п/о введение, мыши ICR) [357]
Тест ПКЛ, ГЛФ ГМЛ-1	Показана анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.05-5.0 мг/кг (однократное п/о введение, крысы Wistar) [357]
Тест ОП, ГЛФ ГМЛ-1	Показана анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.5-1.0 мг/кг (однократное п/о введение, мыши Balb/C)
Тест ПКЛ, хроническое введение ГЛФ	Показана анксиолитическая активность ГМЛ-1 в

ГМЛ-1	дозе 0.5 мг/кг (28-дневное ежедневное п/о введение, мыши ICR)
Тест ПКЛ, оценка продолжительности анксиолитического эффекта ГЛФ ГМЛ-1 у мышей	Показано, что анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.5-5.0 мг/кг (однократное п/о введение, мыши ICR) сохраняется в течение 4 часов после однократного введения вещества [358]
Тест ПКЛ, оценка продолжительности анксиолитического эффекта ГЛФ ГМЛ-1 у крыс	Показано, что анксиолитическая активность ГМЛ-1 в дозах 0.5-1.0 мг/кг (однократное п/о введение, крысы Wistar) сохраняется в течение 5 часов после однократного введения вещества [358]
Дополнительные положительные эффекты ГИЖ-298 (исследования выполнены в отделе фармакогенетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Антидепрессивная активность АФС ГМЛ-1	Показана антидепрессивная активность ГМЛ-1 в дозе 0.5 мг/кг при 5-дневном субхроническом п/о введении в тесте «подвешивание за хвост» (беспородные мыши) [343, 344]
Антидепрессивная активность ГЛФ ГМЛ-1	Показана антидепрессивная активность ГМЛ-1 в дозе 1.0 мг/кг при однократном, и при 5-дневном субхроническом п/о введении в тесте «подвешивание за хвост» (беспородные мыши)
Оценка возможных побочных эффектов ГЛФ ГМЛ-1 (исследования выполнены в отделе фармакогенетики, лаборатории лекарственной зависимости, лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Влияние на уровень спонтанной двигательной активности в инфракрасном актиметре	У ГМЛ-1 в дозах 0.1-5.0 мг/кг (п/о) отсутствуют стимулирующий и седативный компоненты (мыши ICR)
Влияние на моторные функции и координацию движений в тесте “вращающийся стержень”	ГМЛ-1 в дозах 0.1-5.0 мг/кг не вызывал нарушений моторных функций во всех дозах (мыши ICR)
Изучение синдрома отмены в тесте ПКЛ	Резкая отмена длительного применения ГМЛ-1 (0.5 мг/кг, п/о) не приводит к патологическому нарушению поведения и развитию синдрома отмены (мыши ICR)
Оценка наркогенного потенциала в тесте «реакция условно-рефлекторного предпочтения места»	ГМЛ-1 в дозах 0.1-1.0 мг/кг (п/о) не обладает способностью к формированию вторичных подкрепляющих свойств (белые беспородные крысы)
Оценка влияния на кардиопульмонарную систему	ГМЛ-1 в дозе 1.0 мг/кг (п/о) не влияет на уровень артериального давления, на частоту дыхания, на структуру ЭКГ
Оценка токсичности ГМЛ-1 (исследования выполнены в отделе токсикологии и в отделе психофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Острая токсичность АФС ГМЛ-1 у беспородных мышей самцов массой 18-20 г	$ЛД_{50}$ > 1000 мг/кг (в/б введение, максимально возможная доза)

Острая токсичность ГЛФ ГМЛ-1 у беспородных мышей самцов массой 18-20 г	$ЛД_{50}$ > 1000 мг/кг (в/б введение, максимально возможная доза таблеточной массы); $ЛД_{50}$ > 4000 мг/кг (п/о введение, максимально возможная доза таблеточной массы) [359]
Острая токсичность ГЛФ ГМЛ-1 у беспородных белых крыс	$ЛД_{50}$ > 1000 мг/кг (в/б введение, максимально возможная доза таблеточной массы); $ЛД_{50}$ > 4000 мг/кг (п/о введение, максимально возможная доза таблеточной массы) [359]
Хроническая токсичность ГЛФ ГМЛ-1 у беспородных белых крыс	Токсические эффекты в дозах 1.0 и 10.0 мг/кг отсутствуют при ежедневном п/о введении [360]
Хроническая токсичность ГЛФ ГМЛ-1 у кроликов	Токсические эффекты в дозах 1.0 и 10.0 мг/кг отсутствуют при ежедневном п/о введении [360]
Иммунотоксичность ГЛФ ГМЛ-1	Иммунотоксичность отсутствует в дозах 2.2 и 22 мг/кг при 14-дневном п/о введении мышам-гибридам F1 (CBA×C57BL/6) [361]
Аллергенность ГЛФ ГМЛ-1	Реакции анафилаксии, реакция гиперчувствительности замедленного типа, реакция воспаления на конканавалин А отсутствует в дозах 1.0 и 10.0 мг/кг при п/о введении морским свинкам альбиносам [361]
Репродуктивная токсичность ГЛФ ГМЛ-1	Репродуктивная токсичность отсутствует в дозах 1.0 и 10.0 мг/кг при п/о введении беременным беспородным крысам
Мутагенность ГЛФ ГМЛ-1	Мутагенность отсутствует в тесте Эймса (индикаторный штамм *S.typhimurium* и *E.coli*), при использовании метода учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга (беспородные мыши)
Канцерогенность ГЛФ ГМЛ-1	Канцерогенность отсутствует по результатам оценки уровня ДНК-повреждений животных после 3-часовой экспозиции (беспородные мыши)
Фармакокинетика ГМЛ-1 (исследования выполнены в фармакокинетическом отделе ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий») [362–365]	
Методика количественного определения ГМЛ-1 в плазме крови	Разработана и валидирована селективная и чувствительная ВЭЖХ-МС методика количественного определения ГМЛ-1 в плазме крови крыс [365].
Фармакокинетика ГМЛ-1 после однократного в/в введения в дозе 5 мг/кг (беспородные белые крысы)	ГМЛ-1 определяется в плазме крови на протяжении 10 ч. Кажущаяся начальная концентрация (C_0) ГИЖ-298 в плазме крови крыс составила 1550 нг/мл. Период полуэлиминации ($t_{1/2el}$) составил 2,23 ч. Величина кажущегося объёма распределения (Vd) ГИЖ-298 после в/в введения составила 15,85 л/кг [362, 363, 366].
Фармакокинетика ГМЛ-1 после однократного в/ж введения в дозе 10 мг/кг	В организме крыс ГМЛ-1 определяется на протяжении 10-12 ч. Период полувыведения

(беспородные белые крысы)	ГМЛ-1 из плазмы крови составил 2.26 ч. Тканевая доступность в печени составила 4.79, в органе-мишени – мозге – 0.35. Абсолютная биодоступность соединения ГМЛ-1 составила 21.5% [362, 363, 366].
Фармакокинетика АФС/ГЛФ ГМЛ-1 после однократного п/о введения в дозе 50 мг/кг (кролики шиншилла)	Средний промежуток времени достижения максимальной концентрации (Тмакс) ГМЛ-1 в плазме крови кроликов после введения субстанции и таблеточной массы составил 1.3±0.5 ч. Максимальная концентрация (Смакс) ГМЛ-1 в плазме крови кроликов после введения субстанции составила в среднем 155.22±81.82 нг/мл. После введения таблеточной массы этот параметр оказался на 12% меньше (136.91±72.17 нг/мл). Относительная биодоступность ГЛФ ГМЛ-1 составила 102% [366].
Метаболизм ГМЛ-1	Тремя основными путями биотрансформации ГМЛ-1 являются окислительные реакции, приводящие к образованию гидроксилированного (m/z = 358.4), метилированного (m/z = 356.9) и деметилированного (m/z = 328.4) метаболитов [367]
Лекарственная форма ГМЛ-1 (исследования выполнены в лаборатории технологии лекарственных препаратов ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий») [368–371]	
Разработана лекарственная форма ГМЛ-1 в виде таблеток	Состав таблеток: ГМЛ-1 – 1 мг; микрокристаллическая целлюлоза (МСС 101) – 88 мг; поливинилпирролидон (Kollidon 25) – 6 мг; полипласдон XL – 4 мг; магния стеарат – 1 мг.

2.1.5.1. Разработка лабораторного регламента получения фармацевтической субстанции ГМЛ-1

Как было продемонстрировано в разделе **2.1.2** оптимальной схемой синтеза соединения ГМЛ-1 являлась схема, соответствующая первой синтетической стратегии, при которой реакция [3+3]-циклоприсоединения осуществляется на последней стадии путем взаимодействия пирролфенилкетона с 2-азидо-*N*-бензил-*N*-метилакриламидом. Помимо лучшего общего выхода конечного продукта эта синтетическая схема была более экономически целесообразной и требовала меньших временных затрат на ее осуществление. В соответствии с этим именно эта схема легла в основу разработки лабораторного регламента получения фармацевтической субстанции ГМЛ-1.

Лабораторный регламент на производство фармацевтической субстанции ГМЛ-1 разработан и оформлен в соответствии с ОСТом 64-02-003-2002 и ГОСТ 52550-2006.

Лабораторный регламент включает в себя 6 основных стадий технологического процесса (ТП.1.-ТП.6.) (схема 10) и необходимые вспомогательные процедуры (ВР-1 – ВР-12):

ТП.1. Получение морфолида бензойной кислоты.

ТП.2. Получение пирролфенилкетона.

ТП.3. Получение бензилметиламида акриловой кислоты.

ТП.4. Получение бензилметиламида 2,3-дибромпропионовой кислоты.

ТП.5. Получение бензилметиламида 2-азидоакриловой кислоты.

ТП.6. Получение *N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамида (ГМЛ-1).

ВР-1. Приготовление 10% раствора соляной кислоты в воде.

ВР-2. Приготовление 5% раствора гидроксида натрия в воде.

ВР-3. Осушка дихлорэтана.

ВР-4. Приготовление раствора пиррола в сухом дихлорэтане.

ВР-5. Осушение дихлорметана.

ВР-6. Приготовление раствора хлорангидрида акриловой кислоты в сухом дихлорметане.

ВР-7. Приготовление 10% раствора соляной кислоты в воде.

ВР-8. Приготовление 5% раствора гидроксида натрия в воде.

ВР-9. Приготовление 15% раствора дитионита натрия в воде.

ВР-10. Осушение ДМФА.

ВР-11. Приготовление раствора бензилметиламида 2,3-дибромпропионовой кислоты в сухом ДМФА.

ВР-12. Осушение ДМФА

Описание стадий технологического процесса (ТП.1.-ТП.6.) и вспомогательных процедур (ВР-1 – ВР-12) приведено в экспериментальной части (раздел 3.1.1.15).

С использованием лабораторного регламента было наработано необходимое количество серий препарата ГМЛ-1 в количествах от 20 до 250 г.

Для контроля производства в лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств (зав. лаб. д.фарм.н. Л.Н. Грушевская) были разработаны методики контроля качества и определения родственных примесей в субстанциях ГМЛ-1 [372, 373].

В отделе качества и технологий лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был разработан лабораторный регламент получения готовой лекарственной формы ГМЛ-1 в виде таблеток.

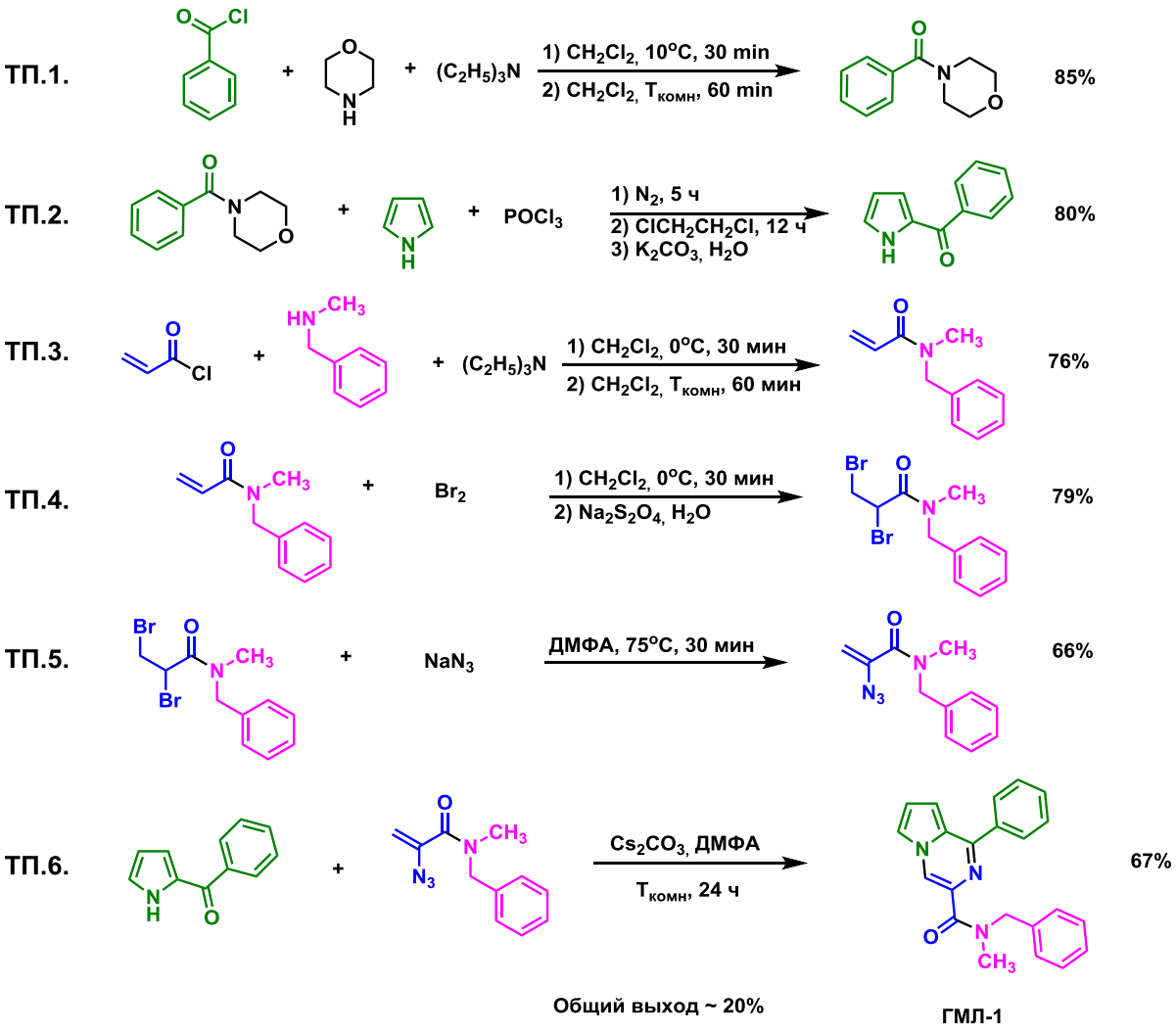


Схема 10. Стадии технологического процесса получения фармацевтической субстанции ГМЛ-1.

2.1.6. Заключение по разработке лигандов TSPO в ряду производных пирроло[1,2-*a*]пиразинов в качестве потенциальных нейропсихотропных средств

С использованием комбинации мишень- и лиганд-ориентированных подходов нами была сконструирована новая группа лигандов TSPO в ряду производных пирроло[1,2-*a*]-пиразинов. Были разработаны удобные пути синтеза соединений данного типа с использование реакции [3+3]-циклоприсоединения пирроларилкетонов к производным 2-азидоакриловой кислоты на ключевой стадии. На основании скрининговых исследований *in vivo* и анализе связи «структура-противотревожная активность» для развития в качестве потенциального анксиолитического средства было отобрано соединение ГМЛ-1 (*N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид). Радиолигандным методом установлено, что ГМЛ-1 обладает высокой аффинностью по

отношению к TSPO (K_i = 5.2*10^{-8} М). В экспериментах *in vivo* в стандартных тестах тревоги на грызунах продемонстрировано, что ГМЛ-1 в интервале доз 0.1-5.0 мг/кг обладает анксиолитической активностью как при в/б, так и при п/о введении. Выраженность эффекта ГМЛ-1 не уступает действию известного бензодиазепинового транквилизатора диазепама (1.0 мг/кг). В отличие от бензодиазепинов, негативно влияющих на память, ГМЛ-1, напротив, обладает существенным положительным ноотропным эффектом. Также для ГМЛ-1 была выявлена нейропротекторная и антидепрессивная активность. Доказано, что механизм анксиолитического действия соединения ГМЛ-1 обусловлен его лигандными свойствами к TSPO и его способностью активировать нейростероидогенез.

Установлено, что ГМЛ-1 является малотоксичным веществом, он не вызывает зависимости и привыкания. Фармакокинетические исследования ГМЛ-1 показали, что он быстро и в достаточном количестве проникает в орган-мишень мозг. Разработана пероральная лекарственная форма ГМЛ-1, сохраняющая все свойства фармацевтической субстанции.

ГМЛ-1 успешно прошел полный цикл доклинических исследований в рамках Госпрограммы Фарма-2020 (ГК № 14.N08.12.0087). В случае дальнейшего успешного прохождения ГМЛ-1 клинических исследований, он может эффективно заменить препараты бензодиазепинового ряда и прочие анксиолитики на рынке фармацевтических средств.

2.2. Конструирование, синтез и изучение противосудорожной активности с сопутствующими биологическими эффектами в рядах различных гетероциклических систем

Как уже отмечалось в обзоре литературы (раздел 1.3) сложность и многофакторность судорожных расстройств, наличие большого процента пациентов с фармакорезистентной эпилепсией и существенное количество серьёзных побочных эффектов ПЭП, многие из которых применяются в течение всей жизни, являются причиной продолжающихся активных поисков новых более эффективных и безопасных препаратов такого типа во всем мире.

Нами осуществлялась программа по поиску новых потенциальных оригинальных противосудорожных средств в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Следует отметить, что в России до сих пор отсутствуют оригинальные ПЭП собственного производства; имеется лишь ряд дженериков и зарубежных аналогов, что дополнительно актуализирует поиск новых препаратов такого типа.

Для конструирования новых молекул с потенциальными противосудорожными свойствами нами была выбрана стратегия фармакофорного моделирования. Это объясняется следующими причинами:

1. Подход фармакофорного моделирования является одним из самых распространенных в мировых исследованиях.
2. Эпилепсия и эпилептические расстройства являются мультифакторными заболеваниями со сложными многокомпонентными механизмами действия. Комбинация фармакофорных элементов соединений различных классов позволяет создавать мультитаргетные молекулы с большей эффективностью.
3. Мишень-ориентированный дизайн при создании потенциальных ПЭП более затруднен также вследствие мультифакторности эпилепсии и отсутствия единого однозначного механизма судорожных расстройств.

Несмотря на большое количество описанных в литературе фармакофорных моделей противосудорожных средств, многие из которых рассмотрены в приведенном выше литературном обзоре, нами было принято решение идентифицировать новые модели для конструирования новых соединений. С одной стороны это было продиктовано тем, что многие из описанных моделей не достаточно точны и указывают лишь на наличие в молекулах определенных групп без указания их взаимного расположения, с другой стороны, далеко не все описанные стратегии приводили к созданию соединений,

перспективных для дальнейшего развития в качестве препаратов. Наконец, представлялось перспективным использование определенного ряда новых фармакофоров и фрагментов активных молекул, ранее не осуществлявшееся, в том числе с целью дополнения противосудорожных эффектов молекул дополнительными видами активности. В качестве молекулярных скэффолдов для дизайна новых соединений с потенциальными противосудорожными свойствами нами использовались следующие гетероциклические системы: бензоилпиридины, гексагидродибензофуран, 4-фенилпирролидон, кумарины, тиокумарины и хинолин-2-оны. Далее в работе приведены результаты дизайна, синтеза и изучению веществ на базе этих гетероциклов.

2.2.1. Производные оксима бензоилпиридинов и гексагидродибензофуранона

2.2.1.1. Построение фармакофорных моделей

Анализ литературных источников позволил установить, что в группе селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС), известных в качестве антидепрессивных средств, имеется ряд соединений, обладающих противосудорожными эффектами. Так, показано, что флуоксетин эффективен в моделях МЭШ, пикротоксин-индуцированных судорог, PTZ, бикукулиновых судорог, пилокарпин-индуцированных судорог и в ряде других моделей. Сходные эффекты наблюдались и для циталопрама [374].

Флуоксетин был эффективен при предотвращении комплексных парциальных судорожных припадков с вторичной генерализацией и без нее в клинических исследованиях [375]. Противосудорожное действие циталопрама также было подтверждено у людей [376].

Еще один представитель класса СИОЗС зимелидин продемонстрировал способность предотвращать судороги у животных в пикротоксиновой модели. При этом его антиконвульсивное действие было объяснено взаимодействием с серотониновыми рецепторами 5-HT_{2C} и 5-HT_{1A} подтипов [377].

Приведенные примеры СИОЗС имеются сходное фармакофорное строение (рис. 83), включающее две близкорасположенные ароматические группы (выделено красным), связанные через 2-3 связи, линейный линкер (выделен синим), связывающий липофильную часть молекул с алкиламинной группой (выделена фиолетовым).

Далее было обнаружено, что подобное фармакофорное строение имеют некоторые лиганды σ1-рецептора, обладающие противосудорожными свойствами. Например, Anavex1-41 и бларкамезин, которые в дополнение к лигандным свойствам к σ-рецептору

являются агонистами M1-рецептора, предотвращали судорожные проявления в моделях МЭШ и PTZ. Молекулы этих веществ имеют липофильный бифенильный фармакофор, в состав линкера входит тетрагидрофурановый фрагмент, также имеются диметиламино-группы [378, 379].

Некоторые трициклические антидепрессанты, такие как имипрамин или амитриптилин, также имеют сходное фармакофорное строение. Например, в имипрамине имеется объемный липофильный дибензоазепиновый гетероцикл, связанный пропановым линкером с диметиламиногруппой. В литературе были найдены публикации, свидетельствующие о наличии у соединений этой группы противосудорожных свойств [380, 381].

Выявленные наблюдения позволили нам идентифицировать фармакофорную модель F1, соответствующую перечисленным группам веществ. В эту модель входит объемный липофильный фрагмент (выделен красным), диалкиламиногруппа (выделена фиолетовым) и связывающий их линейный линкер (выделен синим), который может иметь гетероатомы или кратные связи. Элементы такой модели присутствуют и в ряде других противосудорожных препаратов. Например, GAT1-ингибитор тиагабин практически полностью соответствует модели F1, за исключением наличия дополнительной карбоксильной группы. Размыкание диазепинового цикла бензодиазепинов также обеспечивает конфигурацию модели F1. Наконец, ПЭП карбамазепинового и фенитоинового ряда, имеют в своем составе объемный липофильный биароматический фармакофор, играющий существенную роль в их активности.

Таким образом, фармакофорная модель F1 представлялась весьма перспективной и способной описать вещества с мультитаргетными механизмами действия. На ее основе были предложены две группы веществ **2.2.1** и **2.2.2**. В этих группах использовались сходные диалкиламиногруппы и линкеры различной длинны с оксимными группами. В качестве объемного липофильного фрагмента в группе **2.2.1** использовалась бензоилпиридиновая система различного строения, а в группе **2.2.2** – гексагидродибензофурановый гетероцикл. Выбор этих систем обуславливался, в том числе, желанием ввести в липофильный фармакофор гетероатома с неподеленной электронной парой, способной давать дополнительное взаимодействие с сайтами связывания предполагаемых биомишеней.

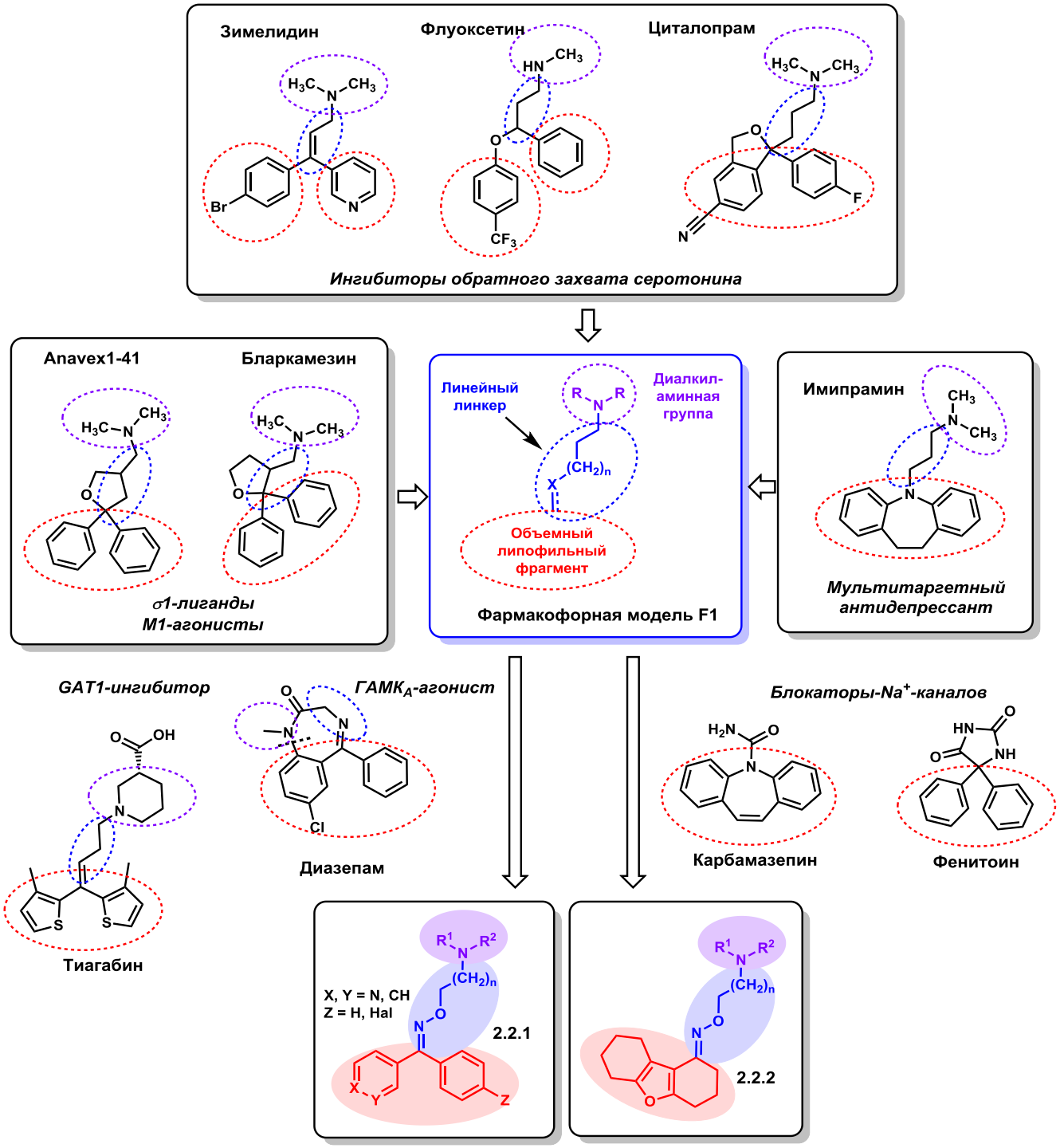


Рисунок 83. Лиганд-ориентированный дизайн аминоалкильных производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.1** и гексагидродибензофуранона **2.2.2**

Анализ литературных данных по веществам с противосудорожной активностью позволил нам выявить еще одну обособленную группу веществ, которая соответствует фармакофорной модели F2 (рис. 84). Вещества этой группы также имеют объемную липофильную область, чаще всего представленную двумя ароматическими или гетероароматическими кольцами (выделено красным). В структурах имеются еще одна ароматическая группа (выделена фиолетовым), которая соединяется с объемным липофильным фрагментом через карбонил-содержащий и гетероатом-содержащий

конформационно-жесткий линкер, такой как карбонил-оксимовый или карбонил-гидразоновый (выделены синим).

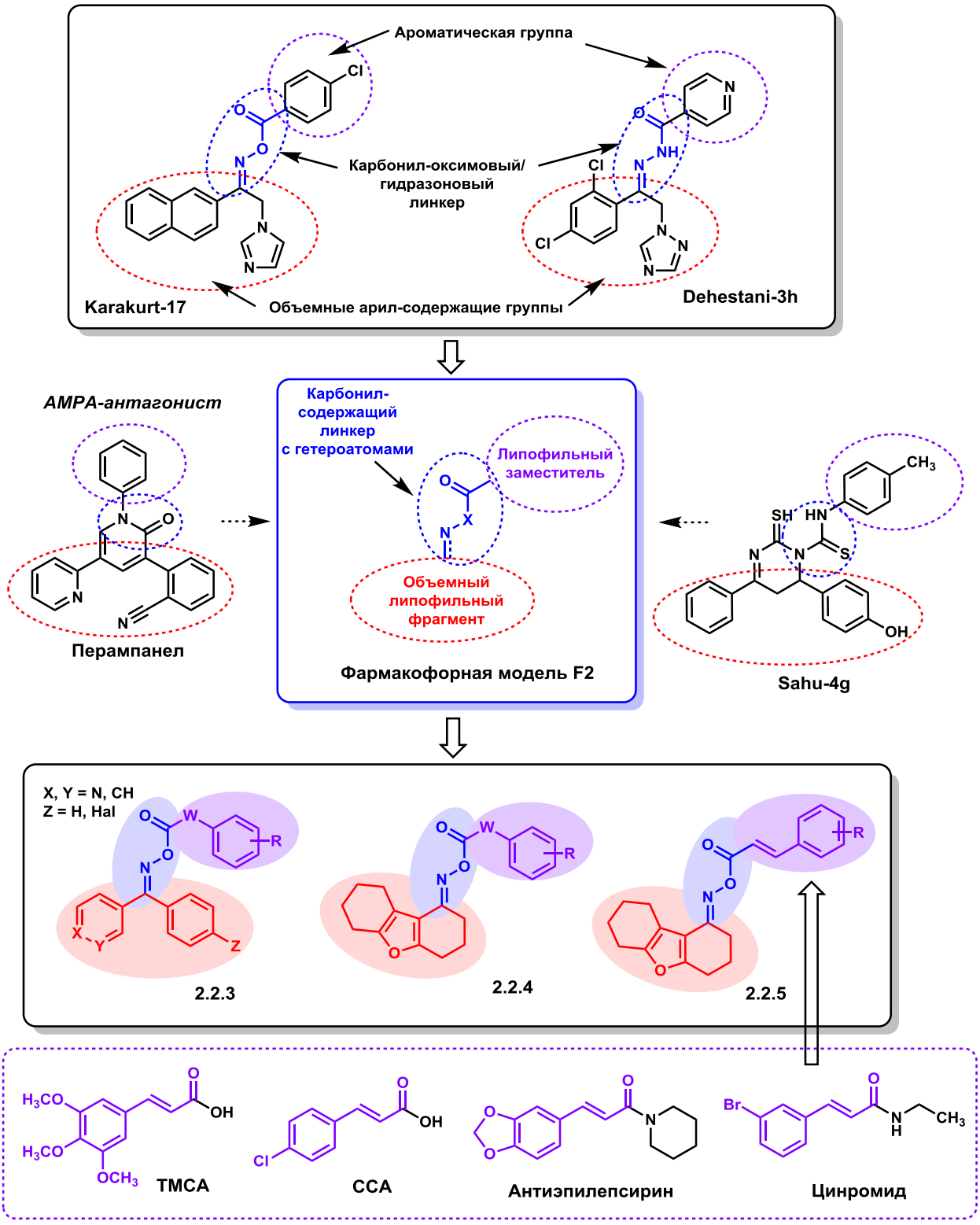


Рисунок 84. Лиганд-ориентированный дизайн арилкарбонильных производных оксима бензоилпиридинов **2.2.3** и гексагидродибензофуранона **22.4** и **2.2.5**

В качестве примеров активных соединений такого типа на схеме приведены Karakurt-17 и Dehestani-3h. Эти вещества были соединениями лидерами в

соответствующих группах, показавшими эффективность в моделях МЭШ и PTZ [172, 382].

Интересно отметить, что сходство с фармакофорной моделью F2 имеет препарат Перампанел, обладающий антагонистическими свойствами к AMPA-рецептору, в котором имеется триароматическая система, связанная жестки циклическим амид-содержащем «линкером». Также этой модели отвечает ряд других веществ различных групп, например, лидер группы триарилсодержащих производных тиомочевины Sahu-4g [173].

Нами на основании модели F2 были предложены группы производных бензоилпиридинов **2.2.3** и гексагидродибензофуранов **2.2.4** и **2.2.5**. При конструировании подгруппы **2.2.5** был использован коричный фармакофор, который был выбран на основании данных о противосудорожной активности рядя коричных кислот и их производных. Так, например, противоэпилептическими свойствами обладает 3,4,5-триметоксикоричная кислота (ТМСА) [383], 4-хлоркоричная кислота [384] (ССА). Из растений вида *Piper* (семейство *Piperaceae*) был выделен амид коричной кислоты, обладающий противосудорожной активностью – противоэпилепсирин [385]. Другим примером амида замещенной коричной кислоты с антиэпилептическими свойствами является цинромид [386].

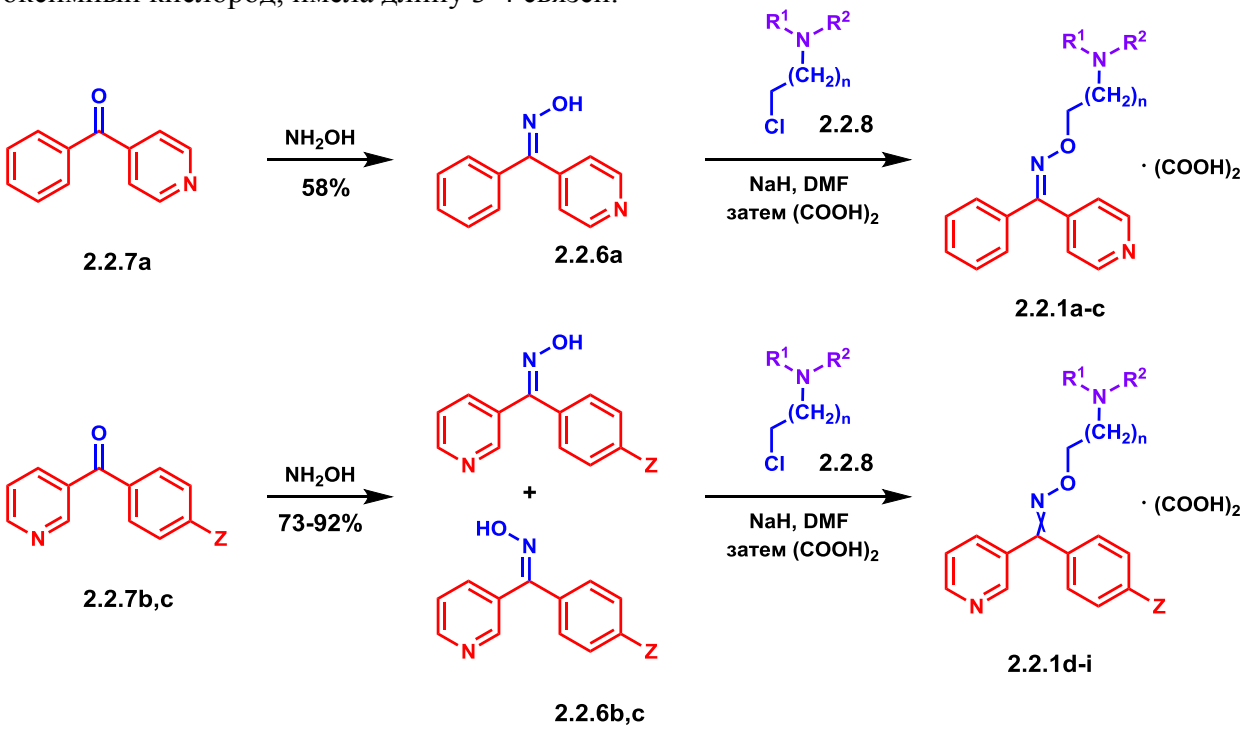
Таким образом нами были выявлены две перспективные фармакофорные модели F1 и F2, на базе которых были сконструированы группы производных оксимов бензоилпиридинов и гексагидрофуранона **2.2.1**-**2.2.5**. Далее осуществлялся синтез соединений этих групп.

2.2.1.2. Синтез производных бензоилпиридинов и гексагидродибензофуранов

Синтез производных бензоилпиридинов осуществлялся в соответствии со схемой 11 [387, 388]. На первой стадии получали оксимы бензоилпиридинов **2.2.6** реакцией соответствующих кетонов **2.2.7** с гидроксиламином. В синтезе использовались 3- и 4-бензоилпиридины. При этом в качестве заместителей в фенильном кольце в некоторых случаях использовались галогены. Следует отметить, что в случае использования 4-бензоилпиридина в результате реакции с гидроксиламином в чистом виде выделяли Z-изомер продукта, а при использовании галоген-замещенных 3-бензоилпиридинов продукты получались в виде смеси Z- и E-изомеров в соотношении примерно 1:1.

Алкилирование оксимов **2.2.6** диалкиламиноалкилгалогенидами **2.2.8** в присутствии гидрида натрия в ДМФА приводило к целевым соответствующим замещенным оксимам, которые выделяли в виде солей с щавелевой кислотой **2.2.2**. В качестве группы NR^1R^2 использовались циклические или алифатические диамины:

морфолин, пиперидин, диметиламин. Алифатическая цепь, связывающая атом азота и оксимный кислород, имела длину 3-4 связей.



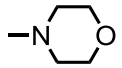
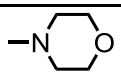
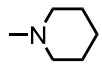
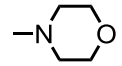
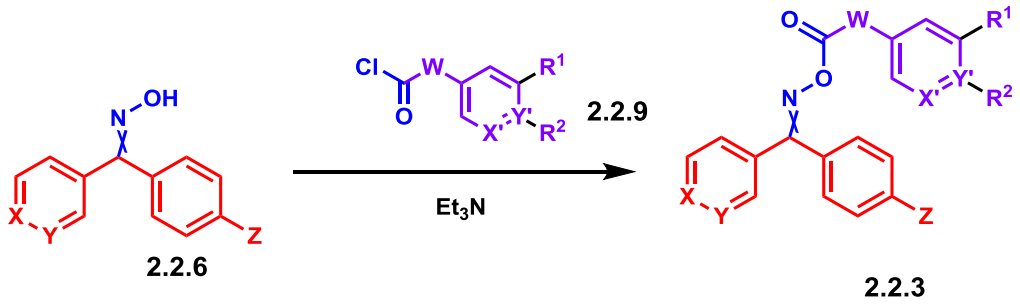
Соединения	Шифр	X	Y	Z	n	NR^1R^2	Соотношение изомеров	Выход, %
2.2.1a	**ГИЖ-298**	N	H	H	1		Z – 100%	75
2.2.1b	**ГИЖ-164**	N	H	H	1	$N(CH_3)_2$	Z/E – 85/15	64
2.2.1c	**ГИЖ-162**	N	H	H	2	$N(CH_3)_2$	Z – 100%	76
2.2.1d	**ГИЖ-301**	H	N	Cl	1		Z – 100%	47
2.2.1e	**ГИЖ-313**	H	N	Cl	1		Z – 100%	89
2.2.1f	**ГИЖ-252**	H	N	Cl	1	$N(CH_3)_2$	Z/E – 70/30	78
2.2.1g	**ГИЖ-292**	H	N	F	1		Z – 100%	32
2.2.1h	**ГИЖ-297**	H	N	F	1		Z/E – 65/35	71
2.2.1i	**ГИЖ-179**	H	N	F	1	$N(CH_3)_2$	Z/E – 70/30	48

Схема 11. Синтез производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.1**

По данным ЯМР-спектров полученные замещенные оксимы бензоилпиридинов получались либо в виде индивидуальных Z-изомеров, либо в виде смеси Z- и E-изомеров. При этом во всех случаях согласно данным NOESY-экспериментов и в соответствии с литературными данными основными продуктами синтезов были Z-изомеры. Интересно

отметить, что при проведении реакций оксима Z-4-бензоилпиридина **2.2.6a** с соединениями **2.2.8** в некоторых случаях происходила частичная изомеризация, и образовывалась смесь изомеров веществ **2.2.1**. В таблице на схеме приведены использовавшиеся заместители, соотношения изомеров и выходы продуктов.



2.2.6 2.2.3

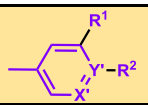
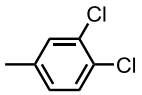
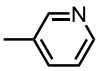
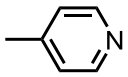
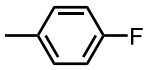
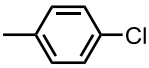
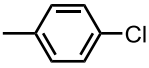
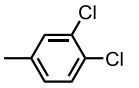
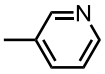
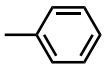
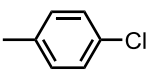
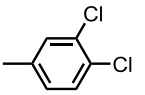
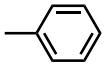
Соединения	Шифр	X	Y	Z	W		Соотношение изомеров	Выход, %
2.2.3a	**ГИЖ-267**	N	H	H	-		Z/E – 95/5	70
2.2.3b	**ГИЖ-323**	N	H	H	-		Z – 100%	56
2.2.3c	**ГИЖ-325**	N	H	H	-		Z – 100%	66
2.2.3d	**ГИЖ-330**	N	H	H	-		Z – 100%	56
2.2.3e	**ГИЖ-370**	N	H	H	CH_2O		Z – 100%	70
2.2.3f	**ГИЖ-309**	H	N	Cl	-		Z/E – 60/40	43
2.2.3g	**ГИЖ-311**	H	N	Cl	-		Z/E – 60/40	51
2.2.3h	**ГИЖ-324**	H	N	Cl	-		Z – 100%	34
2.2.3i	**ГИЖ-312**	H	N	Cl	CH=CH		Z/E – 70/30	53
2.2.3j	**ГИЖ-371**	H	N	F	-		Z/E – 60/40	34
2.2.3k	**ГИЖ-277**	H	N	F	-		Z/E – 50/50	77
2.2.3l	**ГИЖ-275**	H	N	F	CH=CH		Z/E – 70/30	50

Схема 12. Синтез производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.3**

Ацилирование оксимов **2.2.6** хлорангидридами арил-содержащих кислот **2.2.9** в присутствии триэтиламина в бензоле были получены соответствующие *O*-(ацилоксимы) 3- и 4-бензоилпиридинов **2.2.3 2.2.3** (схема 12). Эти вещества также представляли собой либо чистые Z-изомеры, либо смесь Z- и E-изомеров. В качестве хлорангидридов кислот **2.2.9** использовались хлорангидриды галогенсодержащих бензойных кислот, пиридинкарбоновых кислот, коричных кислот и 2-(4-хлорфенокси)уксусной кислоты.

Для получения [389–392] производных 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она сначала был получен его оксим **2.2.10** (схема 13). Для этого на первой стадии по реакции Фиста-Бенари 2-хлорциклогексанона с 1,3-гександионом получали 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-он **2.2.11**. При использовании в этой реакции гидроксида натрия целевой продукт **2.2.11** получался с низким выходом, а основным продуктом был 2-гидроксициклогексанон **2.2.12**. В то же время при использовании в качестве основания триэтиламина трициклический кетон был получен с выходом 60%. Взаимодействием кетона **2.2.11** с гидроксиламином был получен соответствующих оксим **2.2.10** в виде крупных белых кристаллов.

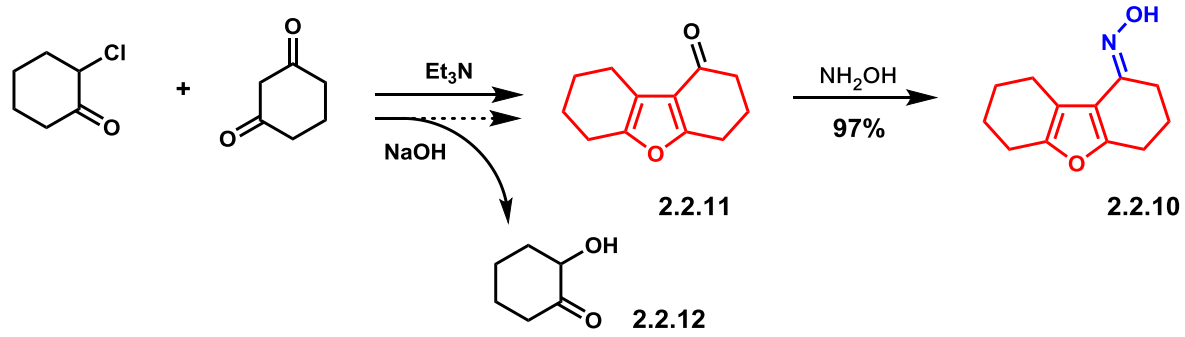


Схема 13. Синтез оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она

По данным рентгеноструктурного анализа (рис. 85) полученный оксим представлял собой чистый *E*-изомер. Съемка кристалла осуществлялась на кафедре кристаллографии и кристаллохимии МГУ им. М. В. Ломоносова под руководством проф. Лысенко К. А.

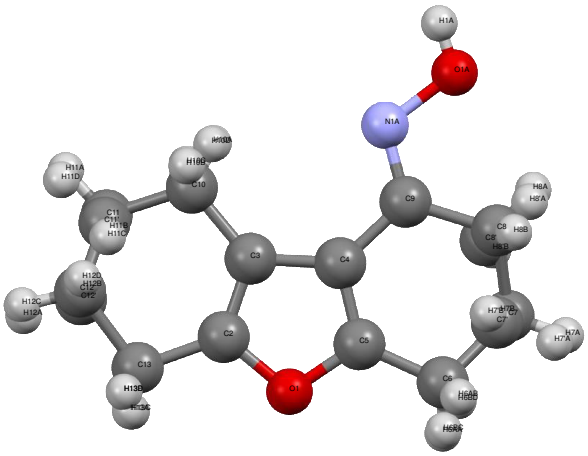
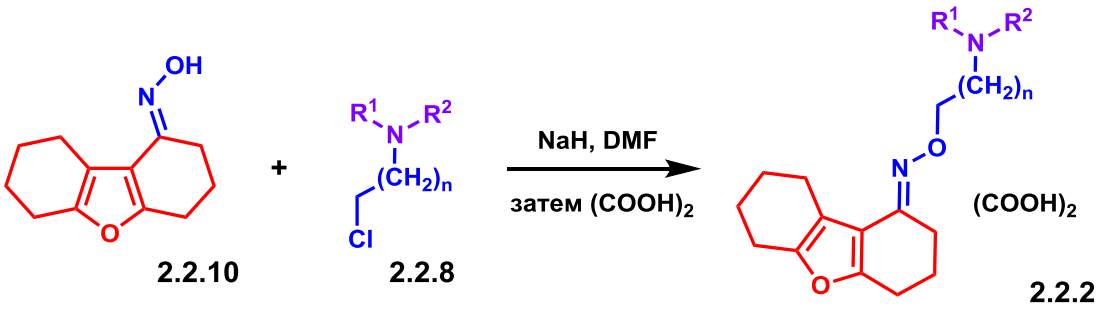


Рисунок 85. Пространственная структура оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она **2.2.10**, полученная методом рентгеноструктурного анализа

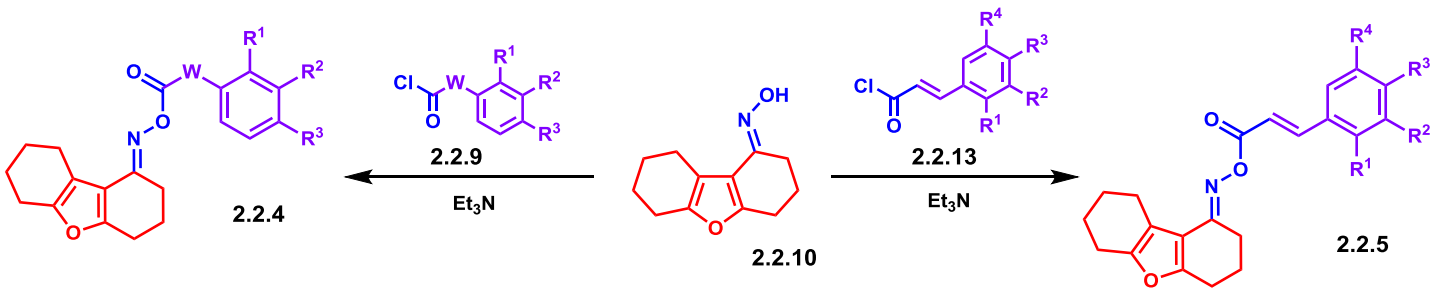
При взаимодействии оксима **2.2.10** с диалкиламиноалкилхлоридами **2.2.8** в присутствии гидрида натрия в ДМФА были получены продукты алкилирования **2.2.2**, которые выделяли в виде водорастворимых оксалатов [391, 392] (схема 14). В качестве диалкиаминной группы использовались морфолиновая, диметил- и диэтиламинные группы. Длина алифатического линкера составляла 3 или 4 связей.



Соединение	Шифр	n	NR^1R^2	Выход, %
2.2.2a	**ГИЖ-343**	1	морфолин	78
2.2.2b	**ГИЖ-344**	2	морфолин	81
2.2.2c	**ГИЖ-345**	1	$N(CH_3)_2$	60
2.2.2d	**ГИЖ-346**	2	$N(CH_3)_2$	68
2.2.2e	**ГИЖ-347**	1	$N(C_2H_5)_2$	90

Схема 14. Синтез производных оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она **2.2.2**

Реакцией оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она с хлорангидридами галоген-замещенных бензойных кислот, коричной кислоты и 2-(4-хлорфенокси)уксусной кислоты (**2.2.9**) в присутствии триэтиламина были получены соединения группы **2.2.4** [389, 390] (схема 15). Отдельно в аналогичных условиях при взаимодействии с хлорангидридами замещенных коричных кислот **2.2.13** были получены производные замещенных коричных кислот **2.2.5**. В качестве заместителей в этом случае использовались галогены, алкокси-группы, метильная и трифторметильная группы.



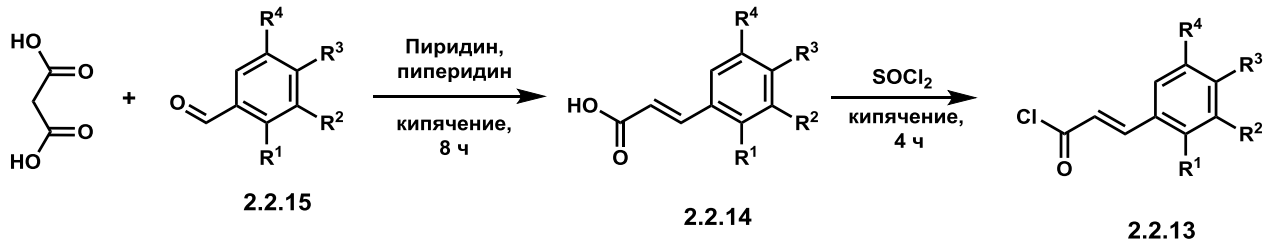
Соединение	Шифр	W	R^1	R^2	R^3	Выход, %
2.2.4a	**ГИЖ-276**	-	H	Cl	Cl	88
2.2.4b	**ГИЖ-272**	CH=CH	H	H	H	84
2.2.4c	**ГИЖ-327**	-	H	H	Cl	77
2.2.4d	**ГИЖ-328**	-	H	H	F	80
2.2.4e	**ГИЖ-332**	-	Cl	H	H	82
2.2.4f	**ГИЖ-338**	-	H	Cl	H	68
2.2.4g	**ГИЖ-333**	-	Cl	H	Cl	68
2.2.4h	**ГИЖ-310**	CH_2O	H	H	Cl	86

Соединение	Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	Выход, %
2.2.5a	**MBS-4**	H	H	F	H	79
2.2.5b	**MBS-7**	F	H	H	H	76
2.2.5c	**MBS-8**	H	F	H	H	87
2.2.5d	**MBS-9**	H	Cl	H	H	76
2.2.5e	**MBS-28**	H	H	Br	H	54
2.2.5f	**MBS-30**	H	OCH_3	OCH_3	H	40
2.2.5g	**ГИЖ-348**	H	H	Cl	H	40
2.2.5h	**ГИЖ-351**	Cl	H	H	H	92
2.2.5i	**ГИЖ-352**	H	Cl	Cl	H	71
2.2.5j	**SD-16**	H	OCH_2O		H	60
2.2.5k	**SD-17**	H	H	CH_3	H	80
2.2.5l	**SD-18**	H	H	OCH_3	H	71
2.2.5m	**SD-19**	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	80
2.2.5n	**SD-20**	H	H	CF_3	H	60

Схема 15. Синтез производных оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она **2.2.4** и **2.2.5**

Замещенные хлорангидриды коричных кислот **2.2.13a–n** были получены из соответствующих кислот **2.2.14** нагреванием их с тионилхлоридом. Коричные кислоты **2.2.14a-i** были коммерчески доступны, а кислоты **2.2.14j-n** были синтезированы по

реакции Кнёвенагеля-Дёбнера из малоновой кислоты и замещенных бензальдегидов **2.2.15** в присутствии пиридина и пиперидина [393].



2.2.15 **2.2.14** **2.2.13**

Соединения	R^1	R^2	R^3	R^4	Выход соединений 2.2.13, %	Выход соединений 2.2.14, %
a	H	H	F	H	94	-
b	F	H	H	H	95	-
c	H	F	H	H	96	-
d	H	Cl	H	H	98	-
e	H	H	Br	H	93	-
f	H	OCH_3	OCH_3	H	99	-
g	H	H	Cl	H	96	-
h	Cl	H	H	H	95	-
i	H	Cl	Cl	H	91	-
j	H	OCH_2O		H	96	55
k	H	H	CH_3	H	99	75
l	H	H	OCH_3	H	97	70
m	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	95	78
n	H	H	CF_3	H	95	80

Схема 16. Синтез коричных кислот **2.2.14** и их хлорангидридов **2.2.13**

2.2.1.3. Выявление противосудорожной активности производных бензоилпиридинов и гексагидродибензофуранов[1]

Выявление противосудорожной активности синтезированных соединений **2.2.1-2.2.5** осуществлялся с использованием методики максимального электрошока (МЭШ) и теста антагонизма с коразолом у мышей [387–392, 394]. Методика МЭШ моделирует первично-генерализованные судороги – так называемые «большие» (*Grant mal*) судорожные припадки [395–397]. В тесте антагонизма с коразолом (пентилентетразолом, PTZ) судороги вызываются химическим воздействием антагонистом $ГАМК_A$-рецепторов коразолом, и они моделируют первично-генерализованные судороги при так называемых

[1] Исследования выполнены совместно с отделом психофармакологии ФГБНУ "ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий" под руководством проф., д.б.н. Т.А. Ворониной

«малых» (*Petit mal*) судорожных припадках [395, 398]. Обе этих модели являются базисными тестами при оценке действия веществ с противосудорожной активностью.

Синтезированные вещества исследовались при в/б введении в широком интервале доз (максимальный разброс от 0.5 до 150 мг/кг). В качестве препаратов сравнения в тестах использовались вальпроевая кислота и мексидол. В тесте МЭШ регистрировали следующие показатели: клонические судороги, тоническую экстензию передних и задних конечностей и гибель животных. Противосудорожный эффект соединений оценивали по способности предотвращать гибель животных, по способности предотвращать тоническую экстензию относительно соответствующих контрольных групп, а также, в некоторых случаях по балльной шкале: 0 баллов – нет судорожных реакций, 1 балл – клонические судороги без потери рефлекса переворачивания, 2 балла – клонические судороги с потерей рефлекса переворачивания, 3 балла – тонические судороги, 4 балла – тонические судороги заканчивающиеся гибелью животного.

В тесте антагонизма с коразолом эффективность соединений оценивалась по снижению выраженности судорог, увеличению доли выживших мышей после введения коразола, а также по увеличению латентного периода первого генерализованного приступа с потерей рефлекса переворачивания относительно соответствующих контрольных групп.

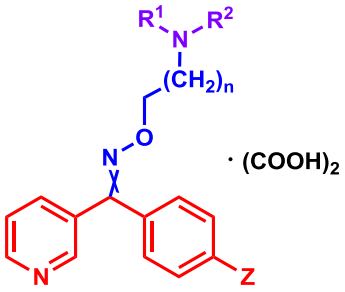
Результаты анализа противосудорожной активности соединений группы диалкиламиноалкилзамещенных оксимов бензоилпиридинов **2.2.1** в тестах МЭШ (режим 500 V; 144 mA, длительность импульса 0,3 с) и антагонизма с коразолом представлены в таблице 14 [387, 388].

Установлено, что статистически достоверно препятствуют развитию судорог и увеличивают выживаемость животных в тесте МЭШ следующие соединения: ГИЖ-298 в дозах от 20 до 150 мг/кг, ГИЖ-162 в дозах от 4 до 50 мг/кг, ГИЖ-301 в дозах от 100 до 150 мг/кг, ГИЖ-252 в дозах от 1.5 до 3 мг/кг, ГИЖ-292 в дозах от 20 до 40 мг/кг. Тенденцию к противоэпилептической активности продемонстрировали соединения: ГИЖ-298 в дозах от 0.5 до 10 мг/кг, ГИЖ-164 в дозах от 50 до 100 мг/кг, ГИЖ-162 в дозах от 1 до 3 мг/кг, ГИЖ-301 в дозах от 2.5 до 10 мг/кг, ГИЖ-313 в дозах от 25 до 50 мг/кг, ГИЖ-252 в дозах от 6.25 до 12.5 мг/кг, ГИЖ-292 в дозе 10 мг/кг. Активность отсутствовала у соединений: ГИЖ-313 в дозе 12.5 мг/кг и ГИЖ-292 в дозе 5 мг/кг.

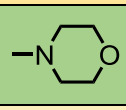
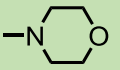
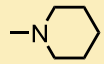
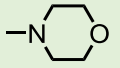
В тесте антагонизма с коразолом (таблица 14) было установлено, что статистически достоверной активностью обладали соединения: ГИЖ-298 в дозах от 20 до 100 мг/кг, ГИЖ-162 в дозе 50 мг/кг, ГИЖ-301 в дозе 100 мг/кг, ГИЖ-252 в дозах от 6 до 12.5 мг/кг. Тенденцию к активности продемонстрировали соединения: ГИЖ-164 в дозах от 12.5 до 50

мг/кг, ГИЖ-162 в дозе 25 мг/кг, ГИЖ-301 в дозе 5 мг/кг, ГИЖ-252 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-292 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-179 в дозах от 10 до 20 мг/кг. Неактивными были вещества: ГИЖ-162 в дозе 12.5 мг/кг, ГИЖ-313 в доза от 12.5 до 50 мг/кг, ГИЖ-292 в дозе 12.5 мг/кг. Препарат сравнения вальпроевая кислота в дозе 100 мг/кг обладал достоверным противосудорожным эффектом в обоих тестах.

Таблица 14. Противосудорожная активность оксимов бензоилпиридинов **2.2.1**



2.2.1

Соединения 2.2.1	**X**	**Y**	**Z**	**n**	**NR^1R^2**	**Активность в тесте МЭШ**	**Активность в тесте антагонизма с коразолом**
ГИЖ-298	N	H	H	1		т.: 0.5-10 акт.: 20-150	акт.: 20-100
ГИЖ-164	N	H	H	1	$N(CH_3)_2$	т.: 50-100	т.: 12,5-50
ГИЖ-162	N	H	H	2	$N(CH_3)_2$	т.: 1-3 акт.: 5-40	неакт: 12.5 т.: 25 акт.: 50
ГИЖ-301	H	N	Cl	1		т.: 2.5-10 акт.: 100-150	т.: 5 акт.: 100
ГИЖ-313	H	N	Cl	1		неакт.: 12.5 т.: 25-50	неакт.: 12,5-50
ГИЖ-252	H	N	Cl	1	$N(CH_3)_2$	акт.: 1.5-3 т.: 6.25-12,5	акт.: 6-12.5 т.: 20
ГИЖ-292	H	N	F	1		неакт.: 5 т.: 10 акт.: 20-40	неакт.: 12.5 т.: 20
ГИЖ-179	H	N	F	1	$N(CH_3)_2$	-	т.: 10-20
Вальпроевая кислота						акт.: 100	акт.: 100

Примечания. Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ согласно критерию Манна-Уитни/ точному критерию Фишера

Анализ связи «структура-активность» в ряду диалкиламиноалкильных производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.1** позволил выявить следующие

закономерности (рис. 86): (1) соединения имеют сходную активность как в тесте с МЭШ, так и в тесте антагонизма с коразолом (АК); (2) более активными являются молекулы, содержащие в качестве аминоалкильного компонента морфолиновую группу; (3) структуры как с этиленовым, так и с пропиленовым линкером, связывающим оксимную и амино-группы, имеют сходную активность; (4) положение атома азота в пиридиновом гетероцикле (3-е и 4-ое положения) не оказывает существенного влияния на противосудорожное действие веществ; (5) более активными являются соединения без заместителей в фенильном кольце, или *n*-хлор замещенные, которые эффективнее, чем *n*-фтор-замещенные. По результатам анализ связи «структура-активность» в качестве наиболее эффективного соединения было отобрано морфолиновое производное ГИЖ-298, показавшее активность в широком интервале доз в обоих использованных тестах.

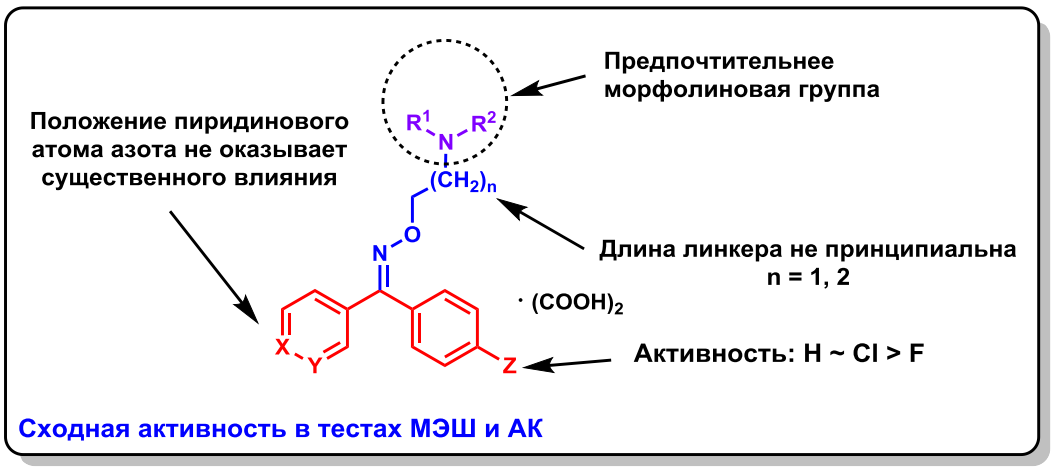


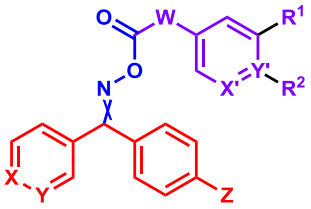
Рисунок 86. Анализ связи «структура-противосудорожная активность» в ряду производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.1**

В группе арилоильных производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.3** [387, 388] статистически достоверной активностью в тесте МЭШ (режим 500 V; 144 mA, длительность импульса 0.3 с) обладали вещества: ГИЖ-267 в дозах от 20 до 40 мг/кг и ГИЖ-323 в дозе 60 мг/кг. Тенденцией к активности обладали соединения: ГИЖ-267 в дозах от 5 до 10 мг/кг, ГИЖ-323 в дозах от 5 до 20 мг/кг, ГИЖ-325 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-309 в дозах от 12.5 до 50 мг/кг, ГИЖ-311 в дозах от 0.5 до 50 мг/кг, ГИЖ-277 в дозах от 0.12 до 30 мг/кг и ГИЖ-275 в дозах от 5 до 20 мг/кг. Неактивным было соединение ГИЖ-325 в дозах 5 и 50 мг/кг (таблица 15).

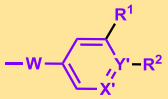
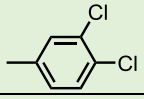
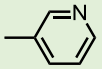
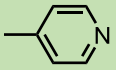
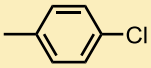
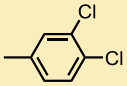
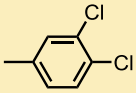
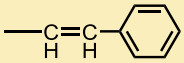
В тесте антагонизма с коразолом среди производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.3** значимой активностью обладало только соединение ГИЖ-325 в дозах от 12.5 до 50 мг/кг. Тенденцию к активности имели вещества: ГИЖ-267 в дозах от 5 до 20 мг/кг, ГИЖ-323 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-309 в дозе 25 мг/кг, ГИЖ-311 в дозах от 25 до 50 мг/кг, ГИЖ-277 в дозах от 25 до 100 мг/кг. Отсутствовала активность у соединений ГИЖ-323 в дозе 5

мг/кг, ГИЖ-309 в дозах 10 и 50 мг/кг, ГИЖ-311 в дозе 12.5 мг/кг, ГИЖ-277 в дозах от 0.12 до 5 мг/кг и ГИЖ-275 в дозе 5 мг/кг. Препарат сравнения вальпроевая кислота в дозе 100 мг/кг обладал достоверным противосудорожным эффектом в обоих тестах (таблица 15).

Таблица 15. Противосудорожная активность оксимов бензоилпиридинов **2.2.3**



2.2.3

Соединения 2.3	**X**	**Y**	**Z**		**Активность в тесте МЭШ**	**Активность в тесте антагонизма с коразолом**
ГИЖ-267	N	H	H		т.: 5-10 акт.: 20-40	т.: 5-20
ГИЖ-323	N	H	H		т.: 5-20 акт.: 60	неакт.: 5 т.: 20
ГИЖ-325	N	H	H		неакт.: 5, 50 т.: 20	акт.: 12.5-50
ГИЖ-309	H	N	Cl		т.: 12.5-50	неакт: 10, 50 т.: 25
ГИЖ-311	H	N	Cl		т.: 0.5-50	неакт.: 12,5 т.: 25-50
ГИЖ-277	H	N	F		т.: 0.12-30	неакт.: 0.12-5 т.: 25-100
ГИЖ-275	H	N	F		т.: 5-20	неакт.: 5
Вальпроевая кислота					акт.: 100	акт.: 100
Примечания. Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ согласно критерию Манна-Уитни/ точному критерию Фишера						

На основании полученных данных анализ связи «структура-активность» для соединений группы **2.2.3** позволяет сделать следующие выводы (рис. 87): (1) соединения активны в большей степени в тесте МЭШ в сравнении с АК-тестом; (2) более активными были молекулы, содержащие в качестве ароматической группы при карбонильном фрагменте 3,4-дихлорфенильную, 3- или 4-пиридины; (3) производные 4-бензоилпиридина обладали большим противосудорожным действием, чем

3-бензоилпиридина; (4) соединения с атомом галогена в фенильном кольце были мене активными, чем незамещенные структуры; (5) роль фрагмента **W** не однозначна. Лучшую активность в тесте МЭШ показало дихлорпроизводное ГИЖ-267, а в тесте антагонизма с коразолом – бипиридиновое соединение ГИЖ-325.

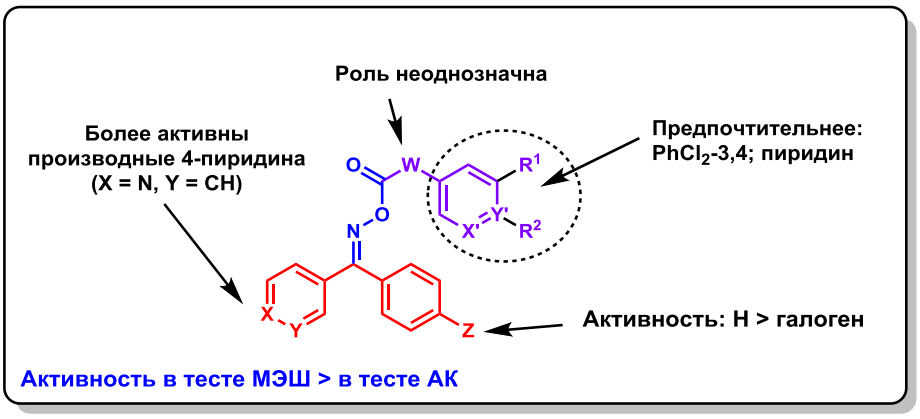
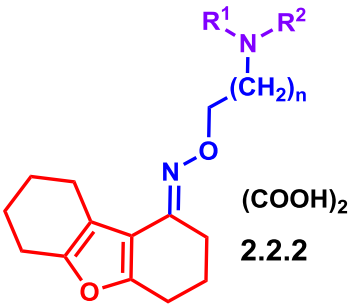


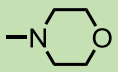
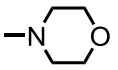
Рисунок 87. Анализ связи «структура-противосудорожная активность» в ряду производных оксимов бензоилпиридинов **2.2.3**

В группе аминоалкильных производных оксима дибензофуранона **2.2.2** [391, 392] активность соединений в тесте МЭШ оценивалась при использовании двух режимов электрошока: (1) при силе тока 144 mA, напряжении 500 V и продолжительности воздействия 0.3 сек и (2) при силе тока 11 mA, напряжении 250 V, продолжительности воздействия 0.2 сек. Было установлено, что достоверной противосудорожной активностью в тесте МЭШ обладают соединения: ГИЖ-343 в дозе 60 мг/кг, ГИЖ-345 в дозе 100 мг/кг и ГИЖ-347 в дозе 60 мг/кг. Тенденцией к активности обладали вещества ГИЖ-343 в дозе 5 мг/кг, ГИЖ-344 в дозах от 50 до 100 мг/кг, ГИЖ-345 в дозах от 5 до 50 мг/кг, ГИЖ-346 в дозе 60 мг/кг. Неактивными были ГИЖ-344 в дозе 5 мг/кг, ГИЖ-346 в дозе 20 мг/кг и ГИЖ-347 в дозе 20 мг/кг (таблица 16).

В тесте антагонизма с коразолом не было выявлено соединений, обладавших достоверной противосудорожной активностью. При этом тенденцией к активности обладали вещества ГИЖ-343 в дозах от 20 до 60 мг/кг и ГИЖ-344 в дозах от 25 до 50 мг/кг. Остальные соединения были неактивными. Препарат сравнения вальпроевая кислота в дозах 150 и 200 мг/кг обладал достоверным противосудорожным эффектом в обоих тестах (таблица 16).

Таблица 16. Противосудорожная активность производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.2** в тесте МЭШ



Соединения 2.2	n	NR^1R^2	Активность в тесте МЭШ	Активность в тесте антагонизма с коразолом
ГИЖ-343	1		т.: 5 акт.: 60	т.: 20-60
ГИЖ-344	2		неакт.: 5 т.: 50-100	т.: 25-50 неакт.: 100
ГИЖ-345	1	$N(CH_3)_2$	т.: 5-50 акт.: 100	неакт.: 25-100
ГИЖ-346	2	$N(CH_3)_2$	неакт.: 20 т.: 60	неакт.: 20-60
ГИЖ-347	1	$N(C_2H_5)_2$	неакт.: 20 акт.: 60	неакт.: 20-60
Вальпроевая кислота			акт.: 150-200	акт.: 150-200

Примечания. Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ точному критерию Фишера/ тесту Данна

По результатам исследований SAR-анализ в ряду диалкиламиноалкильных производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.2** позволил установить следующее (рис. 88): (1) вещества были активными только в тесте с МЭШ (2) в качестве диалкиламинной группе предпочтительнее использование морфолиновой или диэтиламинной группы; (3) активными были только вещества с этиленовым мостиком, связывающим оксимный атом «О» с аминогруппой. Лучшие результаты по активности продемонстрировало соединение ГИЖ-346 с морфолинэтиловым фрагментом, которое было активным в тесте МЭШ в дозе 60 мг/кг и на уровне тенденции показало эффект в тесте антагонизма с коразолом.

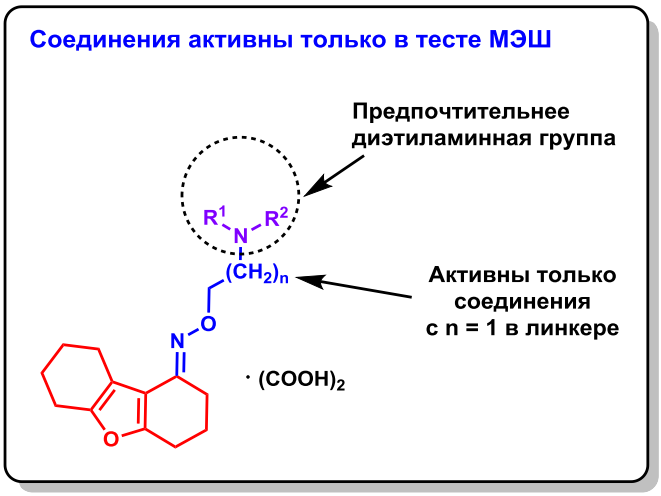
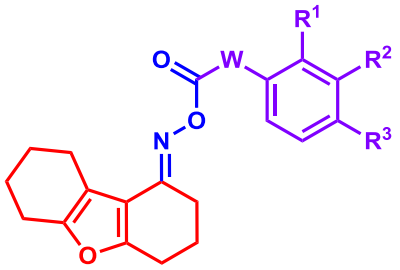


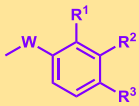
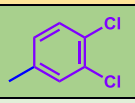
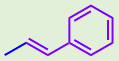
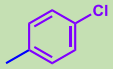
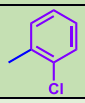
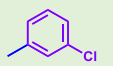
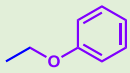
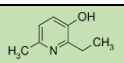
Рисунок 88. Анализ связи «структура-противосудорожная активность» в ряду производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.2**

В группе арилоильных производных оксима дибензофуранона **2.2.4** [389, 390, 394] в тесте МЭШ (режим 250 V; 12-14 mA, длительность импульса 0.2 с) достоверно предотвращали судорожные проявления и гибель животных следующие соединения: ГИЖ-276 в дозах от 20 до 100 мг/кг, ГИЖ-272 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-327 в дозе 30 мг/кг, ГИЖ-332 в дозе 40 мг/кг и ГИЖ-328 в дозе 60 мг/кг. Тенденцией к активности обладали вещества: ГИЖ-276 в дозе 10 мг/кг, ГИЖ-272 в дозе 10 мг/кг, ГИЖ-327 в дозах от 40 до 60 мг/кг, ГИЖ-332 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-338 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-310 в дозах от 5 до 50 мг/кг и ГИЖ-328 в дозе 40 мг/кг. Отсутствовали противосудорожные эффекты у веществ: ГИЖ-276 в дозе 5 мг/кг, ГИЖ-272 в дозе 40 мг/кг, ГИЖ-327 в дозах от 5 до 20 мг/кг, ГИЖ-332 в дозе 10 мг/кг, ГИЖ-338 в дозе 40 мг/кг, ГИЖ-328 в дозе 10 мг/кг и ГИЖ-333 в дозах от 2.5 до 40 мг/кг (таблица 17).

В тесте антагонизма с коразолом статистически достоверную активность проявило только соединение ГИЖ-332 в дозе 20 мг/кг. Тенденцией к противосудорожной активности обладали соединения: ГИЖ-272 в дозе 40 мг/кг, ГИЖ-327 в дозах от 10 до 30 мг/кг, ГИЖ-328 в дозе 40 мг/кг и ГИЖ-333 в дозе 20 мг/кг. Отсутствовали противоэпилептические эффекты у веществ: ГИЖ-276 в дозах от 5 до 40 мг/кг, ГИЖ-272 в дозе 20 мг/кг, ГИЖ-332 в дозе 40 мг/кг, ГИЖ-310 в дозах от 20 до 40 мг/кг, ГИЖ-328 в дозах 10 и 60 мг/кг, ГИЖ-333 в дозах 10 и 40 мг/кг. У препарата сравнения мексидола противосудорожная активность в тесте МЭШ была зафиксирована в дозе 200 мг/кг, в то время как в дозе 100 мг/кг его активность наблюдалась лишь на уровне тенденции. В тесте антагонизма с коразолом это препарат также имел эффект на уровне тенденции (таблица 17).

Таблица 17. Противосудорожная активность производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.4** в тесте МЭШ



Соединения 2.2.4		**Активность в тесте МЭШ**	**Активность в тесте антагонизма с коразолом**
ГИЖ-276		неакт.: 5 т.: 10 акт.: 20-100	неакт.: 5-40
ГИЖ-272		т.: 10 акт.: 20 неакт: 40	неакт.: 20 т.: 40
ГИЖ-327		неакт.: 5-20 акт.: 30 т.: 40-60	т.: 10-30
ГИЖ-332		неакт.: 10 т.: 20 акт.: 40	акт.: 20 неакт.: 40
ГИЖ-338		т.: 20 неакт.: 40	Не изучалось
ГИЖ-310		т.: 5-50	неакт.: 20-40
ГИЖ-328		неакт.: 10 т.: 40 акт.: 60	неакт.: 10, 60 т.: 40
ГИЖ-333		неакт: 2.5-40	неакт.: 10, 40 т.: 20
Мексидол		т.: 100 акт.: 200	т.: 200
Примечания. Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ согласно точному критерию Фишера			

Анализ связи «структура-активность» среди арилоильных производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.4** показывает, что (рис. 89): (1) подобно арилоильным производным оксимов бензоилпиридинов **2.2.3** соединения **2.2.4** проявляли активность в большей степени в тесте с МЭШ; (2) более активными были вещества, содержащие атом галогена в пара-положении, или два атома галогенов в *п*- и *м*-положениях, причем хлор-производные были активнее фтор-производных; (3) соединение, содержащее в качестве фрагмента W этеновый мостик, было активным. Наиболее активным соединением

оказалось дихлорпроизводное ГИЖ-276, обладающее эффективность в широком интервале доз в тесте МЭШ.

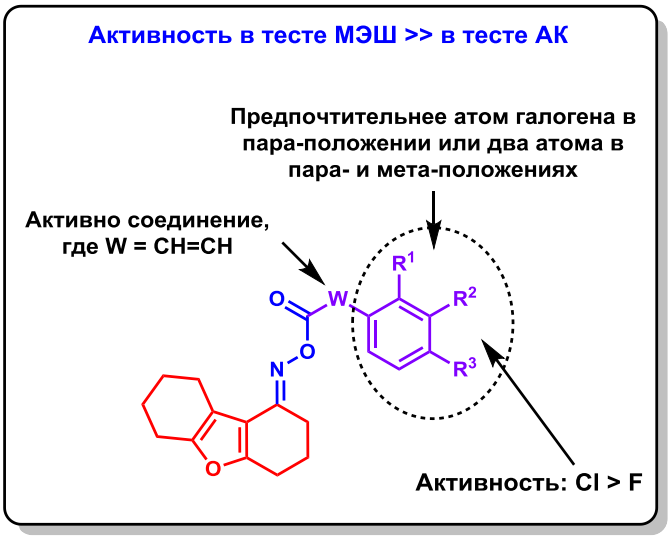


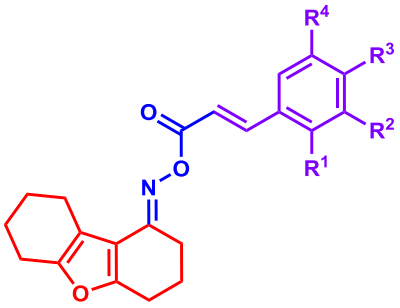
Рисунок 89. Анализ связи «структура-противосудорожная активность» в ряду производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.4**

Отдельно была исследована группа замещенных циннамоильных производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.5**. На основании ранее полученных данных в этом эксперименте был использован только тест МЭШ, который при этом проводился в нескольких режимах с использованием напряжения тока 250 V, силы тока 9-12 мА и длительности импульса 0,2-0,3 с.

Было установлено, что достоверно уменьшали тяжесть судорожных проявлений и увеличивали выживаемость животных соединения: ГИЖ-348 в дозах от 10 до 30 мг/кг, ГИЖ-351 в дозе 10 мг/кг, MBS-4 в дозе 30 мг/кг, MBS-30 в дозе 10 мг/кг и SD-20 в дозе 30 мг/кг. На уровне тенденции активность наблюдалась у веществ ГИЖ-348 в дозе 60 мг/кг, ГИЖ-351 в дозах от 30 до 60 мг/кг, ГИЖ-352 в дозах от 10 до 60 мг/кг, MBS-4 в дозах 10 и 60 мг/кг, MBS-28 в дозах от 10 до 30 мг/кг, MBS-30 в дозах 5 и 20 мг/кг, SD-16 в дозе 30 мг/кг, SD-19 в дозе 60 мг/кг, SD-20 в дозах 10 и 60 мг/кг. Остальные соединения не продемонстрировали активности (таблица 18).

Препарат сравнения вальпроевая кислота в дозе 200 мг/кг обладала достоверным эффектом, снижая судорожные проявления при различных силах тока и полностью предотвращая гибель животных.

Таблица 18. Противосудорожная активность в ряду циннамоильных производных оксима гексагидродибензофуранона производных **2.2.5** в тесте МЭШ



Соединения 2.2.5	R^1	R^2	R^3	R^4	Активность в тесте МЭШ
ГИЖ-348	H	H	Cl	H	акт.: 10-30 т.: 60
ГИЖ-351	Cl	H	H	H	акт.: 10 т.: 30-60
ГИЖ-352	H	Cl	Cl	H	т.: 10-60
MBS-4	H	H	F	H	т.: 10, 60 акт.: 30
MBS-7	F	H	H	H	неакт.: 10-30
MBS-8	H	F	H	H	неакт.: 10-30
MBS-9	H	Cl	H	H	неакт.: 5-30
MBS-28	H	H	Br	H	т.: 10-30
MBS-30	H	OCH_3	OCH_3	H	т.: 5, 20 акт.: 10
SD-16	H	OCH_2O		H	неакт.: 10 т.: 30
SD-17	H	H	CH_3	H	неакт.: 5-50
SD-18	H	H	OCH_3	H	неакт.: 5-20
SD-19	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	неакт.: 10-30 т.: 60
SD-20	H	H	CF_3	H	т.: 10, 60 акт.: 30
Вальпроевая кислота					акт.: 200

Примечания. Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ согласно точному критерию Фишера/ тесту Данна

Анализ связи «структура-активность» в группе замещенных циннамоильных производных оксима дибензофуранона (рис. 90) показал, что наиболее активными оказались соединения, содержащие в фенильном кольце атом галогена (ГИЖ-348, ГИЖ-351, MBS-4), причем предпочтительнее было его наличие в *пара*-положении. *Пара*-хлор-производное было более активным (ГИЖ-348), чем фтор-производное (MBS-4) и чем бром-производное (MBS-28). Также умеренная активность выявлялась у веществ с 3,4-диметоксифенильной группой (MBS-30) и 4-трифторметильной группой (SD-20).

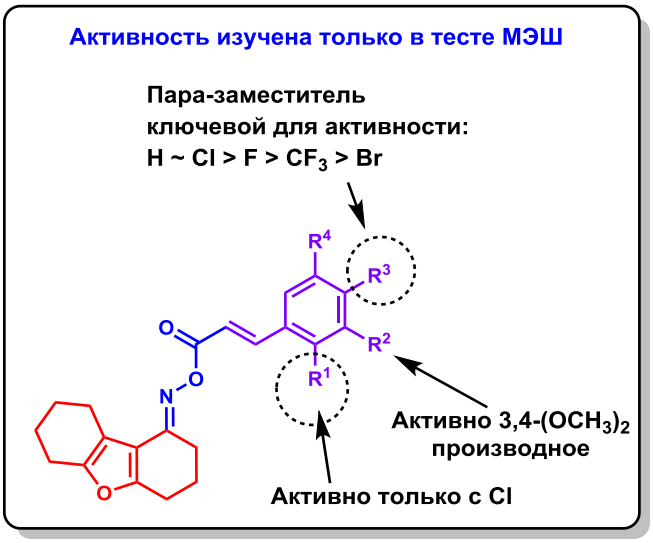


Рисунок 90. Анализ связи «структура-противосудорожная активность» в ряду циннамоильных производных оксима гексагидродибензофуранона **2.2.5**

2.2.1.4. Изучение антиишемических и антигипоксических свойств арилоильных производных оксима гексагидродибензофурана[1]

Цереброваскулярные заболевания являются одними из наиболее частых факторов риска развития симптоматической эпилепсии. Одним из проявлений неврологического дефицита после инсульта является снижение судорожного порога. По данным Международной противоэпилептической лиги, частота симптоматических фокальных эпилепсий сосудистого генеза составляет 6–8%. Ранние эпилептические приступы негативно влияют на восстановительный период после инсульта, способствуют сохранению тяжести неврологического дефицита, снижают выживаемость и увеличивают риск повторного инсульта в течение двух лет после первичного. У пациентов с ишемией головного мозга чаще возникают фокальные приступы, причем в первые 7 дней после инсульта преобладают простые парциальные припадки. Ранние эпилептические приступы чаще наблюдаются при кардиоэмболическом подтипе инсульта и поражении левого каротидного бассейна. В связи с этим, одним из важнейших направлений является поиск лекарственных средств обладающих сочетанием противосудорожной, антиишемической и антигипоксической активностей [399, 400].

С целью выявления веществ с комбинацией антиэпилептических и антиишемических свойств нами был проведен анализ соединений групп **2.2.1-2.2.5**, для которых была подтверждена эффективность в предотвращении судорог, с использованием прогностической программы PASS (https://www.way2drug.com/passonline/predict.php) на предмет вероятности наличия и отсутствия антиишемических и церебральных свойств.

[1] Исследования выполнены совместно с отделом психофармакологии ФГБНУ "ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий" под руководством проф., д.б.н. Т.А. Ворониной

Этот анализ показал, что такими свойствами могут обладать арилоильные производные оксима гексагидродибензофурана **2.2.4** [389, 390]. Согласно расчетам в программе PASS у веществ этой группы с высокой долей вероятности возможно наличие антиишемической и церебральной активности (от 65 до 76%), при этом вероятность отсутствия этих видов активности очень низка (от 1.9 до 3,8%) (таблица 19). Дополнительным свидетельством перспективности изучения соединений группы 2.2.4 на антиишемическую активность являются литературные данные об нейропротекторных свойствах некоторых производных дибензофуранов [401, 402].

Противогипоксическое действие соединений изучали на модели гипоксии с гиперкапнией в герметичных сосудах [403, 404]. Эффективность соединений оценивалась по увеличению времени жизни животного относительно соответствующих контрольных групп. В качестве препарата сравнения использовался мексидол (таблица 19).

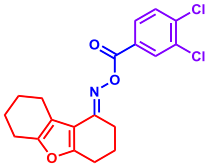
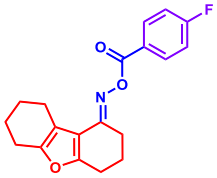
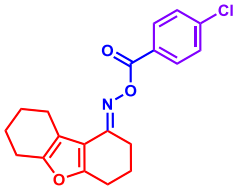
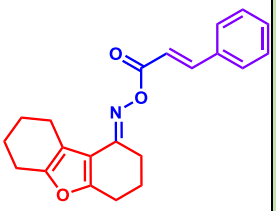
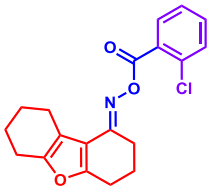
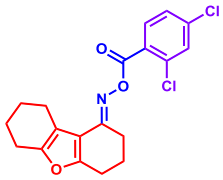
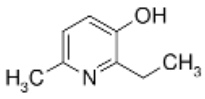
Установлено, что статистически достоверно увеличивало продолжительность жизни животных только соединение ГИЖ-276 в дозах от 10 до 30 мг/кг. Соединения ГИЖ-328 в дозах от 20 до 60 мг/кг, ГИЖ-327 в дозе 30 мг/кг и ГИЖ-332 в дозах от 20 до 40 мг/кг обладали антигипоксической активностью на уровне тенденции. Соединение ГИЖ-272 было не активным. Препарат сравнения мексидол обладал активностью в дозе 200 мг/кг.

Противоишемические свойства производных оксима дибензофуранона **2.4.4** оценивали на модели ишемического инсульта у крыс [405]. Активность веществ оценивалась по показателям выживаемости животных и по развитию неврологического дефицита. В качестве препарата сравнения был использован мексидол.

Установлено, что достоверно обладали антиишемической активностью соединения ГИЖ-276 и ГИЖ-272 в дозах 10 мг/кг. На уровне тенденции активными были вещества ГИЖ-332 и ГИЖ-333 в дозах 10 мг/кг. Соединение ГИЖ-328 было не активным. В дозе 100 мг/кг антиишемическими свойствами обладал препарат сравнения мексидол (таблица 19).

Таким образом, совокупность проведенных исследований подтвердила гипотезу, выдвинутую на основании предиктора PASS и литературных данных, о антиишемических свойствах соединений группы **2.4.4**. Лидерами этого ряда стали соединения ГИЖ-276 и ГИЖ-272, сочетающие антиэпилептические и антиишемические свойства. Для ГИЖ-276 также была определена значимая антигипоксическая активность.

Таблица 19. Прогноз антиишемической и церебральной активности производных оксима гексагидродибензофурана **2.2.4**. Противогипоксическое действие соединений **2.2.4** на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме. Антиишемическая активность производных оксима гексагидродибензофурана **2.2.4** на модели ишемического инсульта.

Шифр	Структура	Pa	Pi	Активность на модели нормобарической гипоксии	Активность на модели ишемического инсульта
ГИЖ-276		0.760	0.019	акт.: 10-30	акт.: 10
ГИЖ-328		0.710	0.027	т.: 20-60	неакт.: 10
ГИЖ-327		0.722	0.025	т.: 30	Не изучалось
ГИЖ-272		0.690	0.030	неакт.: 20-60	акт.: 10
ГИЖ-332		0.650	0.038	т.: 20-40	т.: 10
ГИЖ-333		0.665	0.035	Не изучалось	т.: 10
Мексидол				акт.: 200	акт.: 100

Примечания. Pa/Pi – вероятность наличия/вероятность отсутствия антиишемической и церебральной активности, вычисленная с использованием программ PASS.
Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ согласно критерию Краскала-Уоллиса/ точному критерию Фишера

2.2.2. Производные 4-фенилпирролидона

Хорошо известно, что эпилептические расстройства часто приводят к нарушению памяти и способствуют ряду других когнитивных расстройств [406]. При этом когнитивные нарушения являются в то же время и одним из негативных побочных эффектов фармакотерапии судорожных состояний [146, 147]. В связи с этим нами было предложено сконструировать группу потенциальных противосудорожных соединений с про-когнитивными (ноотропными) свойствами с использованием лиганд-ориентированного подхода. Для этого дизайн новых молекул осуществлялся с использованием базовой структуры рацетамов, обладающих ноотропными свойствами, а именно, структуры родоначальника этого класса – пирацетама. В группе рацетамов имеется ряд известных ПЭП: леветирацетам, бриварацетам и селетрацетам, которые являются лигандами SVA2-рецептора (гликопротеин синаптических везикул), модулирующего экзоцитоз нейротрансмиттеров. Важно отметить, что введение в структуру леветирацетама в 4-ое положение липофильной группы (выделено красным) повышало активность соответствующих соединений.

В ходе дизайна (рис. 91) помимо использования фармакофоров ПЭП рацетамового ряда были учтены следующие факты: (1) введение фенильного заместителя в 4-ое положение пирролидонового цикла молекулы пирацетама приводило к появлению противосудорожной активности у соответствующего препарата фенотропила с сохранением ноотропного действия; (2) введение диметилфенильной группы в амидную группу пирацетама также приводило к наличию антиэпилептического действия у нефирацетама с основным ноотропным эффектом. На основании этих наблюдений нами была выдвинута гипотеза о том, что введение двух липофильных, прежде всего, ароматических фармакофоров и в пирролидоновый цикл, и в амидный фрагмент пирацетама приведет к усилению противосудорождного эффекта. При этом предполагалось полное или частичное сохранение ноотропной активности соответствующих молекул. Такой дизайн привел к созданию фармакофорной модели F3, в которой базовая структура рацетамов имеет два липофильных фармакофора: в 4-ом положении пирролидинонового цикла и при амидном атоме азота боковой цепи. В сконструированной модели F3 также четко прослеживаются фармакофорные компоненты препарата лакосамид: ароматический липофильный фрагмент и аналогичная последовательность амидных связей, соответствующая пирацетаму.

На базе фармакофорной модели F3 нами была предложена группа соответствующих анилидов (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты **2.2.16**. Стоит отметить, что предложенная группа имеет полное соответствие оценочной

фармакофорной модели Пандея: в структуре имеется два ароматических фармакофора (HBS/HBP и HHS/PKS), донор водородной связи (HBD) и группа с неподеленной парой электронов (EPD).

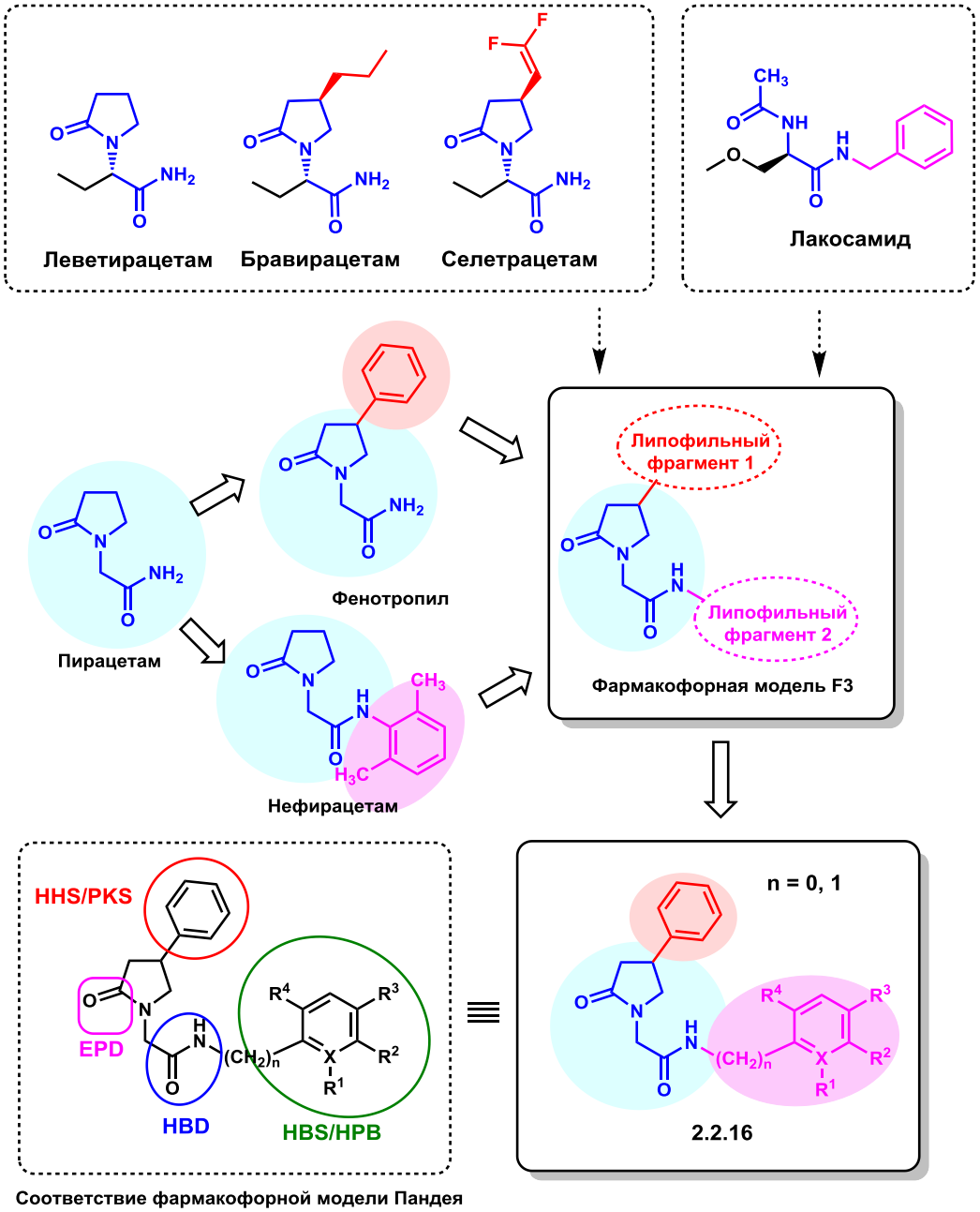
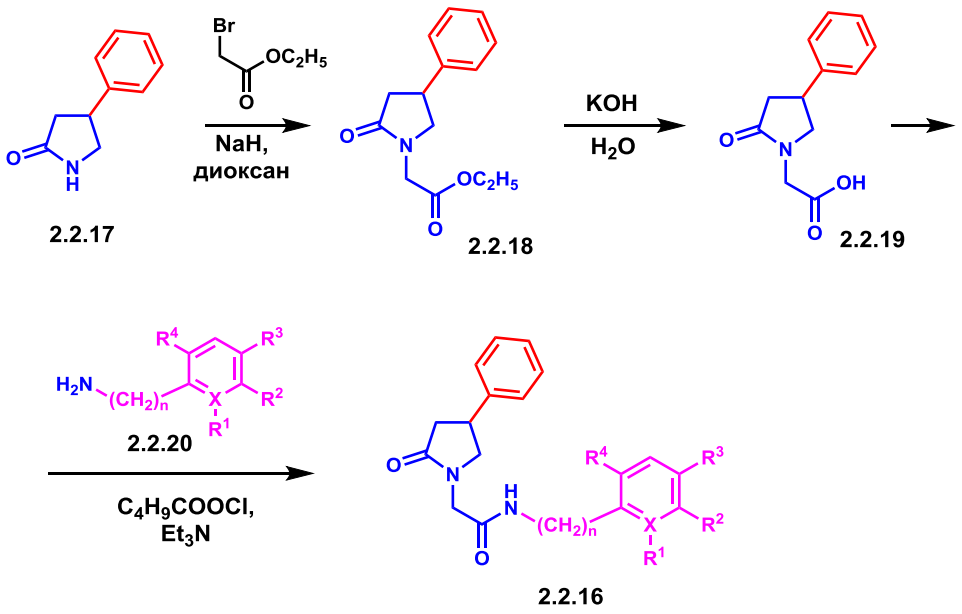


Рисунок 91. Лиганд-ориентированный дизайн производных 4-фенилпирролидона **2.2.16**.

2.2.2.1. Синтез производных 4-фенилпирролидона

Синтез сконструированных веществ **2.2.16** осуществлялся на базе 4-фенилпирролидона **2.2.17**, использовавшегося в виде рацемата (схема 17) [407, 408]. При его взаимодействии с этиловым эфиром бромуксусной кислоты в присутствии гидрида натрия получали этиловый эфир 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты **2.2.18**, который затем гидролизовали в соответствующую кислоту **2.2.19** действием щелочи. На последней стадии кислоту **2.2.19** вводили во взаимодействие с анилинами или

бензиламином **2.2.20** в присутствии триэтиламина и конденсирующего агента – изобутилхлорформиата, что приводило к образованию целевых амидов **2.2.16**.



Соединения	Шифр	X	n	R^1	R^2	R^3	R^4	Выход, %
2.2.16a	**ГИЖ-290**	CH	0	CH_3	H	H	CH_3	54
2.2.16b	**ГИЖ-287**	CH	0	CH_3	H	CH_3	CH_3	60
2.2.16c	**ГИЖ-286**	CH	0	CH_3	H	H	H	43
2.2.16d	**ГИЖ-295**	CH	0	OCH_3	H	H	H	53
2.2.16e	**ГИЖ-296**	CH	0	H	CF_3	H	H	54
2.2.16f	**ГИЖ-315**	N	0	H	H	H	H	44
2.2.16g	**ГИЖ-305**	CH	1	H	H	H	H	42

Схема 17. Синтез производных 4-фенилпирролидона **2.2.16**

2.2.2.2. Скрининг противосудорожной активности производных 4-фенилпирролидона-2[1]

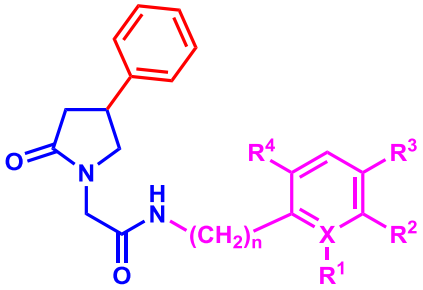
Скрининг противосудорожной активности 4-фенилпирролидонов **2.2.16** проводился с использованием тестов МЭШ и антагонизма с коразолом [407, 408]. Вещества исследовались в дозах 0.5-10 мг/кг (в отдельном случае 50 мг/кг) при в/б введении у мышей. В качестве препарата сравнения использовали леветирацетам в дозах 2.5 и 600 мг/кг.

В тесте МЭШ (параметры электрошока: 100 mA, 50 Hz, длительность 0.3 с.), где оценивалась выживаемость животных и снижение судорожных проявлений на фоне электрошока, достоверно показали наличие противосудорожной активности соединения:

[1] Исследования выполнены совместно с отделом психофармакологии ФГБНУ "ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий" под руководством проф., д.б.н. Т.А. Ворониной

ГИЖ-290 в дозе 2.5 мг/кг и ГИЖ-287 в дозе 5 мг/кг. Тенденцией к активности обладали вещества: ГИЖ-290 в дозах 1 и 5 мг/кг, ГИЖ-287 в дозах 2.5 и 50 мг/кг, ГИЖ-295 в дозе 5 мг/кг, ГИЖ-296 в дозе 2.5 мг/кг и ГИЖ-305 в дозе 5 мг/кг. Неактивными были вещества: ГИЖ-290 в дозах 0.5 и 10 мг/кг, ГИЖ-286 в дозах от 2.5 до 10 мг/кг, ГИЖ-295 в дозах 2.5 и 10 мг/кг, ГИЖ-296 в дозах от 5 до 10 мг/кг, ГИЖ-305 в дозах 2.5 и 10 мг/кг (таблица 20).

Таблица 20. Противосудорожная активность производных 4-фенилпирролидона **2.2.16**



Соединения 2.2.16	n	R^1	R^2	R^3	R^4	Активность в тесте МЭШ	Активность в тесте АК
ГИЖ-290	0	CH_3	H	H	CH_3	неакт.: 0.5; 10 т.: 1.0; 5 акт.: 2.5	т.: 1.0-2.5 акт.: 5-10
ГИЖ-287	0	CH_3	H	CH_3	CH_3	т.: 2.5; 50 акт.: 5	неакт.: 5
ГИЖ-286	0	CH_3	H	H	H	неакт.: 2.5-10	т.: 2.5-5 неакт.: 10
ГИЖ-295	0	OCH_3	H	H	H	неакт.: 2.5; 10 т.: 5	акт.: 2.5-10
ГИЖ-296	0	H	CF_3	H	H	т.: 2.5 неакт.: 5-10	акт.: 2.5 т.: 5 неакт.: 10
ГИЖ-305	1	H	H	H	H	неакт.: 2.5; 10 т.: 5	неакт.: 2.5; 10 акт.: 5
Леветирацетам						неакт.: 2.5 т.: 600	неакт.: 2.5 акт.: 600

Примечания. Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ согласно точному критерию Фишера/ критерию Стьюдента

В тесте антагонизма с коразолом, в котором анализировалось увеличение латентного периода генерализованного судорожного приступа и выживаемости животных, активность была выявлена у соединений: ГИЖ-290 в дозах от 5 до 10 мг/кг, ГИЖ-295 в дозах от 2.5 до 10 мг/кг, ГИЖ-296 в дозе 2.5 мг/кг и ГИЖ-305 в дозе 5 мг/кг. На уровне тенденции противосудорожные эффекты были зафиксированы у веществ: ГИЖ-290 в доза от 1 до 2.5 мг/кг, ГИЖ-286 в дозах от 2.5 до 5 мг/кг, ГИЖ-296 в дозе 5

мг/кг. Отсутствовала активность у веществ ГИЖ-287 в дозе 5 мг/кг, ГИЖ-286 в дозе 10 мг/кг, ГИЖ-296 в дозе 10 мг/кг, ГИЖ-305 в дозах 2.5 и 10 мг/кг (таблица 20).

Препарат сравнения леветирацетам в дозе 2.5 мг/кг не оказывал противосудорожного эффекта в тестах МЭШ и антагонизма с коразолом. В дозе 600 мг/кг леветирацетам обладал активность в тесте МЭШ на уровне тенденции и был достоверно активным в модели антагонизма с коразолом.

Анализ связи структура-противосудорожная активность позволил сделать следующие выводы (рис. 92). Наиболее активным в обоих тестах оказалось соединение ГИЖ-290, содержащее при амидном атоме азота 2,6-диметилфенильную группу, то есть соединение, которое можно рассматривать, как суперпозицию фенотропила и нефирацетама. Введение дополнительного метильного заместителя к структуре ГИЖ-290 (n = 0; R^1, R^2, R^3 = Me; R^2 = H) приводило к исчезновению противосудорожной активности в тесте антагонизма с коразолом и к ее сохранению в тесте МЭШ. Удаление одной метильной группы из фенильного кольца соединения ГИЖ-290 приводило к полному исчезновению противосудорожного действия в обоих тестах. В случае наличия одной *орто*-метокси-группы (n = 0; R^1 = OMe, R^2-R^4 = H) или *мета*-трифторметильной группы (n = 0; R^2 = CF_3, R^1,R^3,R^4 = H) в фенильном кольце, или при использовании в качестве амидного заместителя бензильной группы (n = 1; R^1-R^4 = H) противосудорожная активность выявлялась лишь в тесте антагонизма с коразолом.

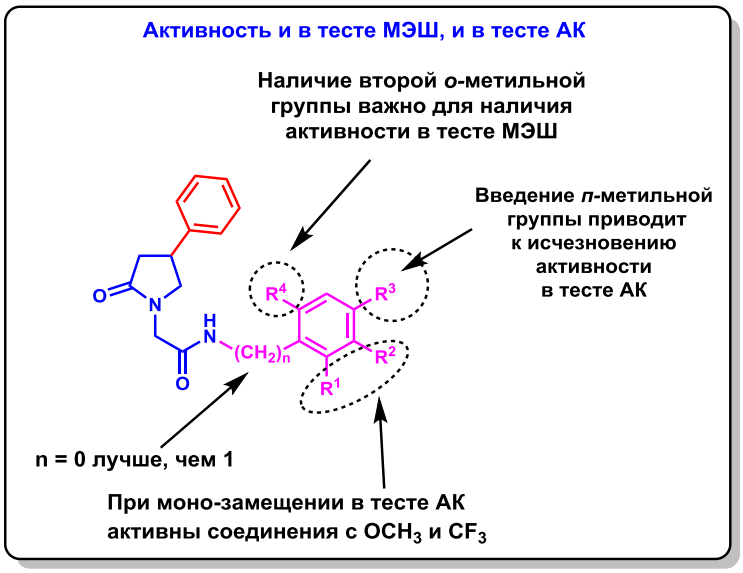


Рисунок 92. Анализ связи «структура-противосудорожная активность» в ряду производных 4-фенилпирролидона **2.2.16**

2.2.2.3. Изучение ноотропной активности соединения ГИЖ-290[1]

Исходя из дизайна группы 4-фенилпирролидона **2.2.16** необходимо было провести изучение ноотропных свойств ее представителей. Для изучения данного вида активности было отобрано соединение ГИЖ-290, продемонстрировавшее наилучшие показатели во всех тестах по изучению противосудорожной активности. Как уже отмечалось, именно это вещество представляет собой суперпозицию таких препаратов, как фенотропил и нефирацетам, для которых известны ноотропные свойства. Предикторная программа PASS также свидетельствует о высокой вероятности наличия ноотропной активности у соединения ГИЖ-290 (Pa > 0.74), и о низкой вероятности отсутствия такой активности (Pi < 0.03).

Исследование ноотропных свойств ГИЖ-290 проводили на беспородных белых мышах с использованием теста пространственной памяти в водном лабиринте Морриса [409, 410]. Соединение ГИЖ-290 изучали в дозах 2,5 и 5 мг/кг при в/б введении. В качестве препаратов сравнения были использованы ноотроп пирацетам (в дозе 400 мг/кг) и противосудорожное средство рацетамового ряда – леветирацетам (в дозе 600 мг/кг).

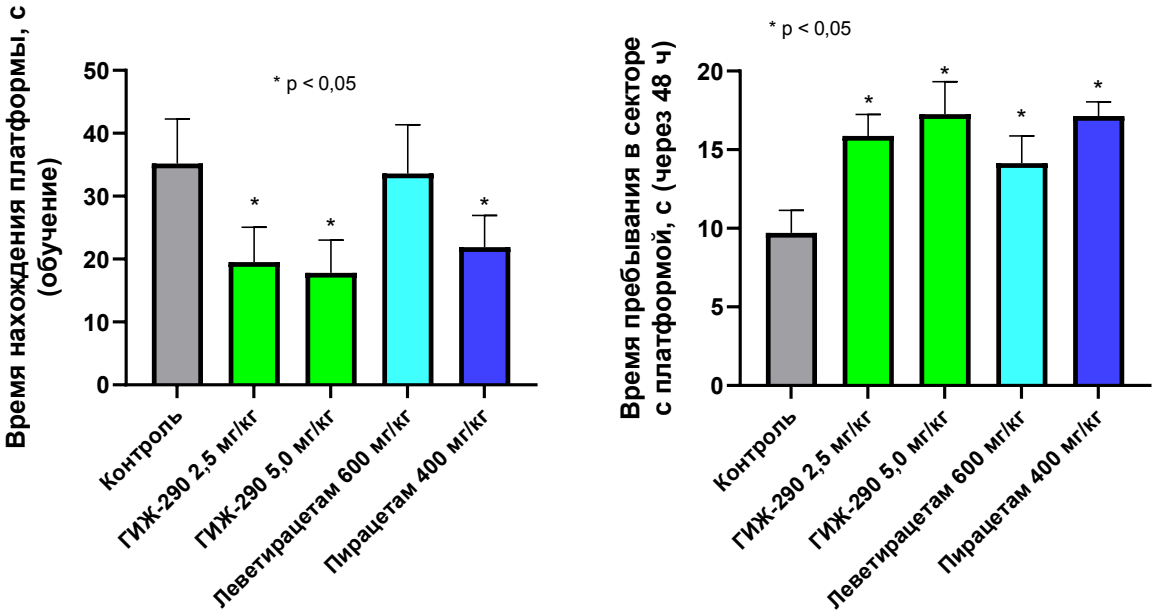


Рисунок 93. Ноотропная активность соединения ГИЖ-290 в тесте «водный лабиринт Морриса» в сравнении с леветирацетамом и пирацетамом.

Установлено, что соединение ГИЖ-290 во всех исследованных дозах достоверно снижало время нахождения платформы в водном лабиринте Морриса, как минимум, не уступая по эффективности препарату сравнения пирацетаму в дозе 400 мг/кг. При этом

[1] Исследования выполнены совместно с отделом психофармакологии ФГБНУ "ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий" под руководством проф., д.б.н. Т.А. Ворониной

препарат сравнения леветирацетам в этих условиях был неактивен. При воспроизведении выработанного пространственного навыка через 48 часов после этапа обучения соединение ГИЖ-290 в дозах 2.5 и 5 мг/кг достоверно увеличивало время нахождения в секторе, где при обучении находилась платформа, как минимум, не уступая по выраженности эффекта препаратам сравнения леветирацетаму и пирацетаму (рис. 93).

Таким образом, была подтверждена гипотеза о наличии ноотропного действия у представителя ряда производных 4-фенилпирролидона **2.2.16** ГИЖ-290.

2.2.3. Производные кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она

Среди существующих противосудорожных средств в особую группу можно выделить производные γ-аминомасляной кислоты (ГАМК) (рис. 94). Среди них наиболее широкое распространение получили препараты: габапентин, прегабалин, вигабатрин и прогабид. Несмотря на явное наличие ГАМК-фармакофора у соединений этой группы механизмы их действия существенно различаются, а у некоторых веществ до конца не выяснены. Считается, что габапентин и прегабалин являются лигандами α2δ-субъединицы потенциалзависимых кальциевых каналов [411]. Габапентин также активирует калиевые каналы Kv7.3 и Kv7.5 [412]. Вигабатрин является необратимым ингибитором ГАМК-аминотрансферазы (ГАМК-АТ) [413]. Прогабид является пролекарством ГАМК, благодаря чему является агонистом различных подтипов ГАМК-рецепторов [414]. На основании представленных и подобных им производных ГАМК с противосудорожной активностью нами была предложена фармакофорная модель F4, в которой ГАМК или ее производные связаны с липофильным фармакофором.

Отталкиваясь от фармакофорной модели F4, нами было предложено использовать противосудорожный лекарственный потенциал ГАМК-фармакофора путем его связывания через атом азота с гетероциклическими ядрами, в качестве которых были использованы кумарины, тиокумарины или хинолин-2-оны [415–417]. Выбор данных гетероциклических систем был обусловлен их активным успешным использованием в медицинской химии, в том числе, и при создании веществ с противосудорожными свойствами. Среди таких соединений, например, производное хинолин-2-она Ukrainets-30 [418] и производное кумарина Bhat-71a [419]. Таким образом нами были сконструированы производные кумаринов, тиокумаринов или хинолин-2-онов **2.2.21-2.2.23**.

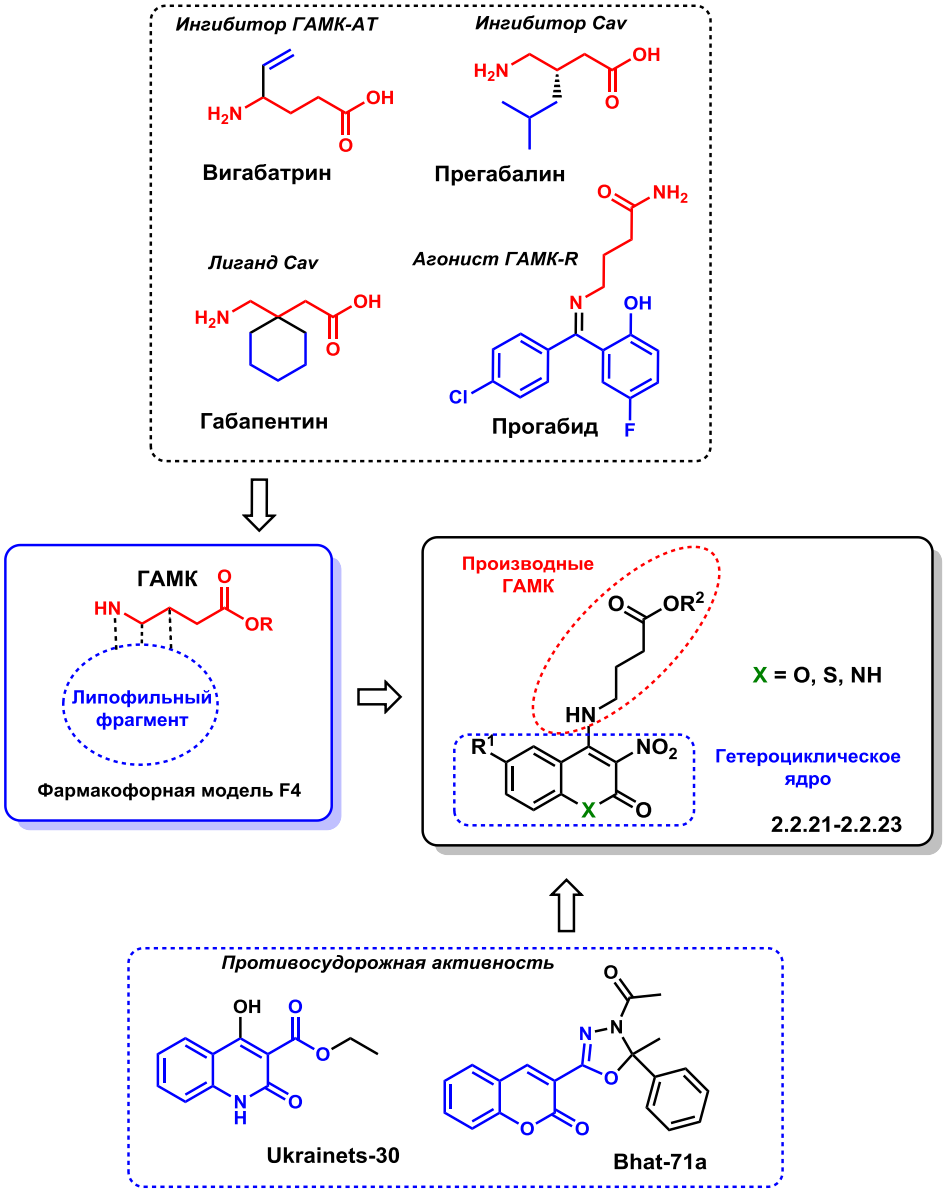


Рисунок 94. Лиганд-ориентированный дизайн производных кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она **2.2.21-2.2.23**.

2.2.3.1. Синтез производных кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она

Для синтеза сконструированных гетероциклических производных ГАМК **2.2.21-2.2.23** требовалось использование соответствующих 3-нитро-4-хлоркумаринов, тиокумаринов и хинолин-2-онов **2.2.24-2.2.26**. При этом 3-нитро-4-хлоркумарины **2.2.24** являлись коммерчески доступными реагентами, а соответствующие производные тиокумарина **2.2.25** и хинолин-2-она **2.2.26** были синтезированы из тиофенола и анилина, соответственно [415–417].

Для получения 3-нитро-4-хлортиокумарина **2.2.25** из тиофенола на первой стадии получали 4-гидрокси-1-тиокумарин **2.2.27** (схема 18). При этом воспроизведение литературной методики, заключающейся во взаимодействии тиофенола с малоновой кислотой в присутствии фосфорилхлорида и хлорида алюминия при длительном

нагревании [420] приводило к образованию 4-гидрокси-1-тиокумарина **2.2.27** с низким выходом 31%.

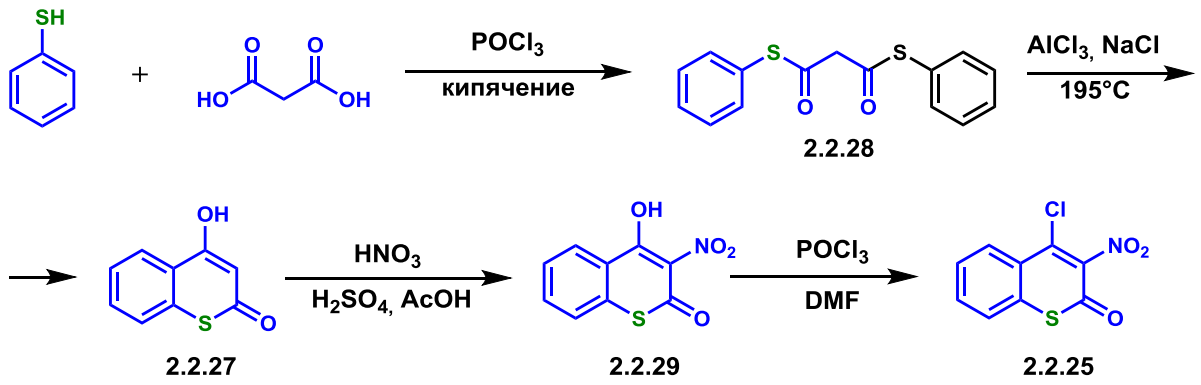


Схема 18. Получение 3-нитро-4-хлортиокумарина **2.2.25**

В связи с этим нами был предложен альтернативный двухстадийный метод синтеза 4-гидрокси-1-тиокумарина **2.2.27**. На первой стадии происходит взаимодействие тиофенола и малоновой кислоты с образованием дитиофенилового эфира малоновой кислоты **2.2.28** с выходом 82%. На второй стадии происходит циклоконденсация полученного соединения **2.2.28** в присутствии $AlCl_3$ в качестве кислоты Льюиса, при этом выход 4-гидрокси-1-тиокумарина **2.2.27** достигает 73%. Таким образом, разработанный нами метод синтеза 4-гидрокси-1-тиокумарина **2.2.27** позволяет получить это вещество с существенно большим выходом (суммарный выход – 60%).

Нитрование 4-гидрокси-1-тиокумарина **2.2.27** осуществлялось азотной кислотой в присутствии серной и уксусной кислот, в результате чего получался 4-гидрокси-3-нитро-1-тиокумарин **2.2.29** с высоким выходом. Гидроксильную группу в соединении **2.2.29** далее замещали на атом хлора действием фосфорилхлорида в ДМФА. Целевой 3-нитро-4-хлор-1-тиокумарин **2.2.25** получается с выходом 88%.

4-Хлор-3-нитрохинолин-2-он **2.2.26** получали на базе анилина по сходной схеме (схема 19). На первой стадии реакций диэтилового эфира малоновой кислоты с анилином получали дианилид малоновой кислоты **2.2.30**. На второй стадии происходит циклоконденсация полученного дианилида **2.2.30** в 4-гидроксихинолин-2-он **2.2.31** в присутствии свежеприготовленной полифосфорной кислоты при нагревании в течение 5 часов. Нитрование 4-гидроксихинолин-2-она **2.2.31**проводили в 54%-ной азотной кислоте в течение 20 мин при 75°C, при этом образовывался 4-гидрокси-3-нитрохинолин-2-он **2.2.32**. 3-Нитро-4-хлорхинолин-2-он **2.2.26** был получен замещением гидроксильной группы 4-гидрокси-3-нитрохинолин-2-она **2.2.32** на атом хлора действием фосфорилхлорида в присутствии четвертичной аммонийной соли TBBAB. Целевой продукт **2.2.26** получается с выходом 71%.

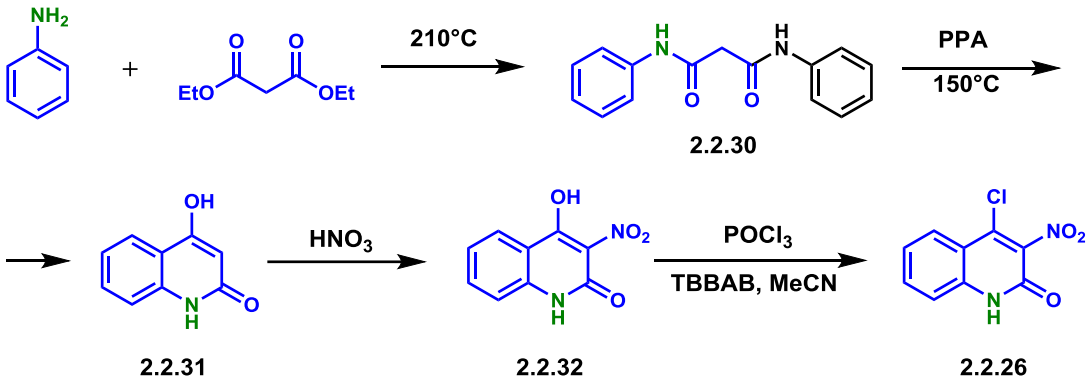


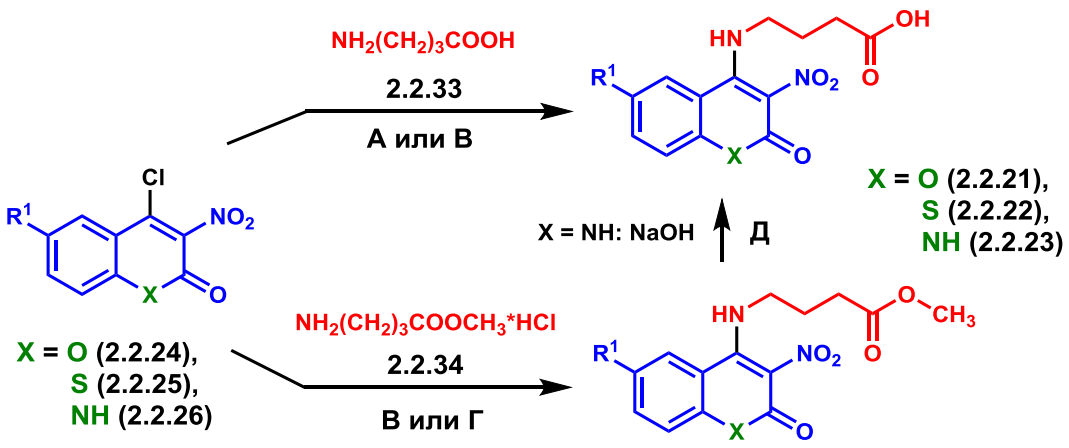
Схема 19. Получение 4-хлор-3-нитрохинолин-2-он **2.2.26**

Для получения кумариновых и тиокумариновых производных ГАМК **2.2.21** и **2.2.22** было предложено два варианта условий проведения реакции [415–417] (схема 20).

Первый заключался во взаимодействии 4-хлоркумаринов **2.2.24** и тиокумарина **2.2.25** с 2.2-кратным избытком аминокислоты **2.2.33** (R^2 = OH) при кипячении в диоксане. Выбор данного растворителя обоснован тем, что он растворяет исходные вещества и плохо растворяет продукт реакции. В качестве второго варианта было предложено взаимодействие эквимольных количеств 4-хлоркумаринов **2.2.24** и тиокумарина **2.2.25** и аминокислоты **2.2.33** (R^2 = OH) в присутствии триэтиламина в этаноле при кипячении. Реакции, вне зависимости от предложенных условий, идут с высокими выходами, и конечные продукты **2.2.21** и **2.2.22** легко очищаются перекристаллизацией из этанола.

Взаимодействие 4-хлоркумаринов **2.2.24** и тиокумарина **2.2.25** с метиловым эфиром ГАМК **2.2.34** (R^2 = OCH_3) происходило значительно быстрее, чем с ГАМК, и в более мягких условиях: при комнатной температуре в толуоле в присутствии триэтиламина. Данные об условиях реакции и выходах представлены в таблице на схеме 20.

Для взаимодействия 3-нитро-4-хлорхинолин-2-она **2.2.26** с производными аминокислот в качестве растворителя был выбран пиридин вследствие низкой растворимости исходных веществ в других растворителях. Взаимодействие соединения **2.2.26** с эфиром ГАМК осуществлялось при кипячении в пиридине в течение 2 часов. Метиловый эфир *N*-(3-нитрохинолин-2-он-4-ил)-4-аминомасляной кислоты **2.2.23a** был выделен с высоким выходом. В то же время, в указанных условиях реакцию с самой ГАМК провести не удалось. *N*-(3-нитрохинолин-2-он-4-ил)-4-аминомасляная кислота **2.2.23b** была получена омылением эфира **2.2.23a** действием щелочи в водном метаноле.



Соединение	Шифр	Условия реакции	Время реакции	X	R^1	COOY	Выход, %
2.2.21a	**ГМ-1**	А: диоксан, кипячение	120 мин	O	H	H	59
		Б: Et_3N, EtOH, кипячение	90 мин				69
2.2.21b	**ГМ-2**	В: Et_3N, PhMe, т.комн.	30 мин	O	H	CH_3	79
2.2.21c	**ГМ-5**	А: диоксан, кипячение	60 мин	O	NO_2	H	81
2.2.21d	**ГМ-6**	В: Et_3N, PhMe, т.комн.	25 мин	O	NO_2	CH_3	79
2.2.22a	**ГМ-3**	А: диоксан, кипячение	120 мин	S	H	H	60
		Б: Et_3N, EtOH, кипячение	180 мин				74
2.2.22b	**ГМ-4**	В: Et_3N, PhMe, т.комн.	30 мин	S	H	CH_3	77
2.2.23a	**ГМ-7**	Г: пиридин, кипячение	120 мин	NH	H	CH_3	63
2.2.23b	**ГМ-8**	Д: NaOH, H_2O, MeOH, кипячение	40 мин	NH	H	H	64

Схема 20. Синтез производных кумаринов, тиокумаринов и хинолин-2-онов **2.2.21-2.2.23**

Для соединений ГМ-1 и ГМ-3 было определено их пространственное строение методом порошковой рентгеновской дифракции (рис. 95)[1]. Дифракторгамму ГМ-1 проиндицировали в триклинной сингонии; на основании объёма ячейки предположили пространственную группу P1. Структурный мотив, полученный для ГМ-1, содержал значительно укороченные контакты C-H..H-C и необычную конформацию фрагмента бутановой кислоты. Анализ морфологии кристалла по Браве-Фриделю-Доннаю-Харкеру (BFDH) в программе Mercury предсказал пластинчатую форму кристалла с возможным

[1] Исследование выполнено в соавторстве с к.х.н. А.О. Дмитриенко (ФГБУН «Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова» РАН)

направлением преимущественной ориентации по кристаллографическому направлению 001. Повторный поиск в FOX с учетом преимущественной ориентации вдоль этого направления привел к кристаллографически приемлемому решению.

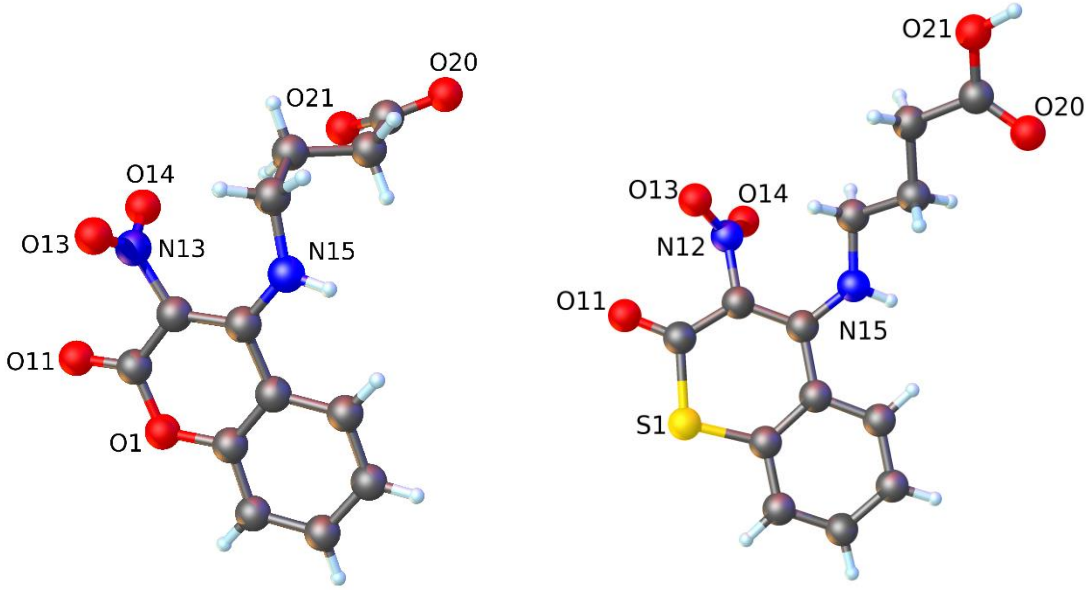


Рисунок 95. Вид молекул ГМ-1 и ГМ-3 в кристаллах, атомы изображены тепловыми эллипсоидами p=0.5.

Дифрактограмму ГМ-3 проиндицировали в моноклинной сингонии; анализ систематических погасаний позволил предположить пространственную группу P21/c. Для поиска структурного мотива применяли алгоритм параллельной закалки, реализованный в программе FOX. Анализ морфологии кристалла ГМ-3 предсказывает пластинчатую форму с возможным направлением преимущественной ориентации по кристаллографическому направлению 020. Поиск структурного мотива в FOX как с учетом преимущественной ориентации, так и без него приводит к одному и тому же кристаллографически приемлемому решению.

2.2.3.2. Скрининг противосудорожной активности кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она[1]

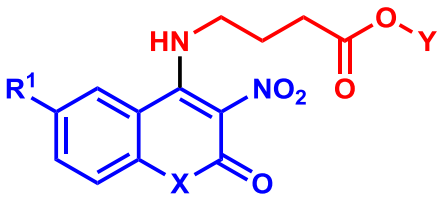
Скрининг противосудорожной активности производных кумаринов, тиокумаринов и хинолин-2-онов **2.2.21-2.2.23** на первом этапе осуществлялся с использованием теста МЭШ (режим 500 V, 144 mA, длительность 0.3 с). Было установлено, что достоверной активностью обладает только соединение ГМ-1 в дозах от 60 до 80 мг/кг, при этом тенденцией к активности обладали соединения ГМ-1 в дозе 40 мг/кг, ГМ-2 в дозах от 10 до 30 мг/кг, ГМ-3 в дозах от 20 до 120 мг/г и ГМ-7 в дозе 12.5 мг/кг. Вещества ГМ-1 в дозе

[1] Исследования выполнены совместно с отделом психофармакологии ФГБНУ "ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий" под руководством проф., д.б.н. Т.А. Ворониной

20 мг/кг, ГМ-2 в дозах 1-5 и 60 мг/кг, ГМ-3 в дозе 10 мг/кг, ГМ-4 в дозах от 10 до 60 мг/кг, ГМ-5 в дозах от 10 до 40 мг/кг, ГМ-6 в дозах от 10 до 40 мг/кг и ГМ-7 в дозах от 25 до 50 мг/кг (таблица 21).

В тесте антагонизма с коразолом достоверно значимой активностью обладали соединения ГМ-3 в дозе 10 мг/кг, ГМ-4 в дозе 10 мг/кг, ГМ-6 в дозах от 10 до 40 мг/кг и ГМ-7 в дозе 12.5 мг/кг. Тенденцией к противосудорожной активности обладали вещества ГМ-2 в дозе 40 мг/кг, ГМ-3 в дозах от 20 до 40 мг/кг, ГМ-4 в дозах от 20 до 40 мг/кг, ГМ-5 в дозах от 20 до 40 мг/кг и ГМ-7 в дозе 25 мг/кг. Неактивными были соединения ГМ-1 в дозах от 20 до 80 мг/кг, ГМ-2 в доза от 10 до 20 мг/кг, ГМ-5 в дозе 10 мг/кг и ГМ-7 в дозе 50 мг/кг (таблица 21).

Таблица 21. Противосудорожная активность производных кумаринов, тиокумаринов и хинолин-2-онов **2.2.21-2.2.23** в тесте МЭШ на мышах.



Соединения	X	R^1	Y	Активность в тесте МЭШ	Активность в тесте АК
ГМ-1	O	H	H	неакт.: 20 т.: 40 акт.: 60-80	неакт.: 20-80
ГМ-2	O	H	CH_3	неакт.: 1-5; 60 т.: 10-30	неакт.: 10-20 т.: 40
ГМ-3	S	H	H	неакт.: 10 т.: 20-120	акт.: 10 т.: 20-40
ГМ-4	S	H	CH_3	неакт.: 10-60	акт.: 10 т.: 20-40
ГМ-5	O	NO_2	H	неакт.: 10-40	неакт.: 10 т.: 20-40
ГМ-6	O	NO_2	CH_3	неакт.: 10-40	акт.: 10-40
ГМ-7	NH	H	CH_3	т.: 12.5 неакт.: 25-50	акт.: 12,5 т.: 25 неакт.: 50

Примечания. Активность представлена следующим образом: «акт.» - статистически достоверно активные дозы; «т.» - дозы, при которых наблюдалась тенденция к активности; «неакт.» - неактивные дозы. Дозы указаны в мг/кг. Достоверно активными считались дозы соединений, показавшими эффекты со значимостью отличий от контрольной группы $p \leq 0.05$ согласно точному критерию Фишера

Анализ связи «структура-активность» в ряду синтезированных соединений (рис. 96) показал, что в тесте МЭШ наибольшую активность продемонстрировало соединение ГМ-1, содержащее в своей структуре кумариновый гетероцикл с одной нитро-

группой в 3-ем положении и открытый ГАМК-фрагмент. Введение дополнительной группы (R^1) приводит к исчезновению активности. Также производные кумаринов были более активными, чем тиокумаринов и хинолин-2-онов; а незамещенные производные ГАМК были активнее, чем их метиловые эфиры. В тесте АК наблюдались практически обратные закономерности: производные тиокумаринов были сходны по активности с хинолин-2-онами, а производные кумаринов были малоактивны. Дополнительная нитро-группа в кумариновом цикле усиливал противосудорожное действие, а метиловые эфиры ГАМК были предпочтительнее, чем незамещенные кислоты.

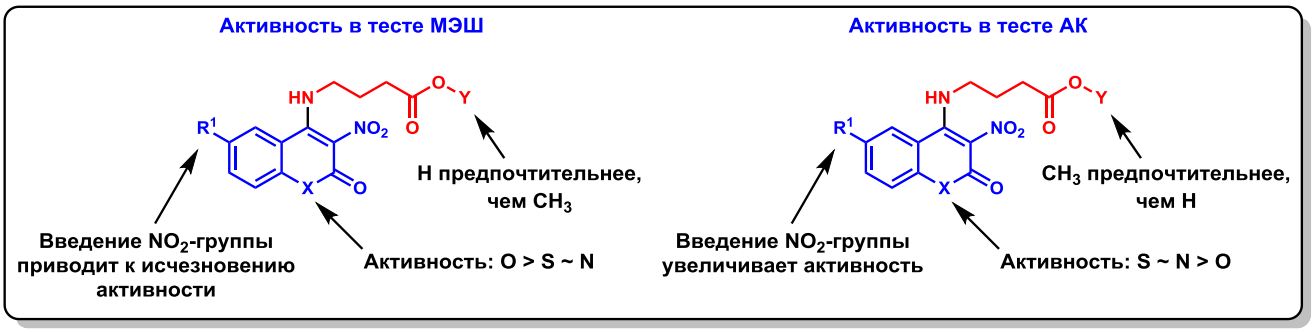


Рисунок 96. Анализ связи «структура-противосудорожная активность» в ряду производных кумаринов, тиокумаринов и хинолин-2-онов **2.2.21-2.2.23**

В качестве соединений-лидеров в каждой подгруппе были идентифицированы следующие молекулы: производное кумарина ГМ-1, производное тиокумарина ГМ-3 и производное хинолин-2-она ГМ-7.

Соединение ГМ-1 было изучено далее более подробно в отделе психофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» [421]. Было установлено, что ГМ-1 в дозе 50 мг/кг обладает противоэпилептическим действием на модели первично-генерализованных судорог, вызванных бемегридом и на модели вторично-генерализованных судорог с хроническим кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом.

2.2.3. Докинговые исследования новых соединений с противосудорожной активностью

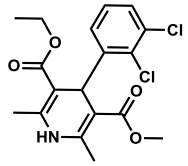
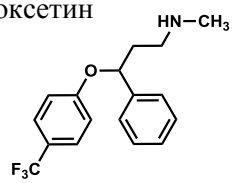
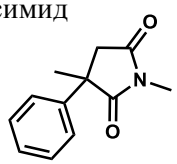
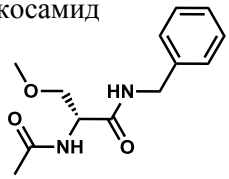
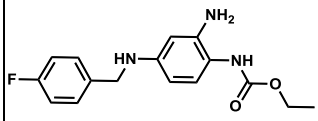
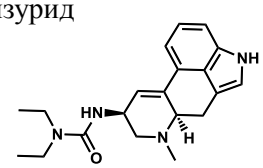
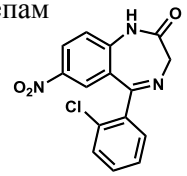
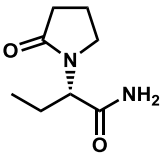
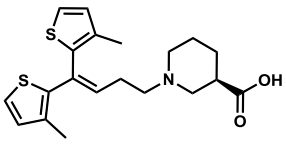
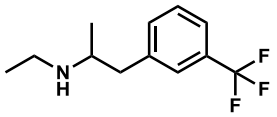
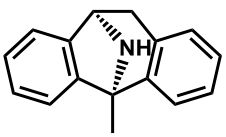
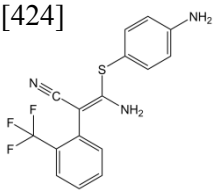
В соответствии с тем, что в лиганд-ориентированном дизайне предложенных нами соединений использовались молекулы различных классов, в том числе, обладающие мультитаргетными свойствами, для оценки возможных механизмов действия новых веществ было проведено исследование по анализу их теоретических аффинностей в отношении серии биологических мишеней, вовлеченных по литературным данным в эффекты ряда противосудорожных препаратов. При этом такой анализ проводился прежде

всего для тех веществ из новых классов **2.2.1-2.2.5**, **2.2.16** и **2.2.21-2.2.23**, которые продемонстрировали реальный противосудорожный эффект в моделях *in vivo*. Следует отметить, что такое исследование находится в полном согласием с современной концепцией мультитаргетности большинства лекарственных средств, в частности, противосудорожных препаратов, что было освещено в обзоре литературы.

Молекулярный докинг осуществлялся в программе Schrödinger Glide v8.1. В качестве предполагаемых биомишеней были выбраны различные ионные каналы: кальциевый Cav1.2-канал (пример лиганда с противосудорожными свойствами – фелодипин), кальциевый Cav3.1-канал (одним из его лигандов является ПЭП месуксимид), натриевый Nav1.7-канал (лигандом является ПЭП лакосамид) и калиевый Kv7.2-канал (его лиганд ретигабин находится на клинических испытаниях в качестве ПЭП); $ГАМК_A$-рецептор (его лиганды бензодиазепины являются ПЭП, например, клоназепам); ГАМК-транспортер (GAT-1) (пример ПЭП-лиганда – тиагабин); AMPA-рецептор (лиганд перампанел – противоэпилептическое средство); NMDA-рецептор (имеется ряд лигандов с противосудорожными свойствами, например, дизоцилпин); серотониновые рецепторы ($5\text{-}HT_{2A}$ и $5\text{-}HT_{2B}$) (лиганд этих рецепторов флуоксетин обладает противосудорожной активностью); мускариновый рецептор (M2) (доказана его вовлеченность в механизмы судорог); дофаминовый рецептор (D2) (многие лиганды обладают противоэпилептическими свойствами, например, лизурид); синаптический везикулярный белок (SV2A) (ПЭП леветирацетам и бриварацетам – его лиганды); σ1-рецептор (например, лиганд фенулрамин, проходящий клинические исследования в качестве ПЭП) и внеклеточная киназа (ERK2) (лиганд SL-327 имеет противосудорожные свойства). В таблице 22 перечислены выбранные для докинговых исследований биомишени, указаны их идентификаторы в PDB и приведены структуры вышеуказанных лигандов этих мишеней с противосудорожными свойствами. M2- и ERK2-рецепторы по литературным данным также являются потенциальными биомишенями для ПЭП. Структура синаптического везикулярного белка (SV2A) была взята из структурной базы данных AlphaFold.

Результаты мультидокингового исследования приведены в таблице 23. Для выбранных активных *in vivo* соединений в этой таблице приведены значения Docking Score, которые являются характеристикой взаимодействия «лиганд-биомишень». Для удобства восприятия значения в таблице выделены цветом: лучшие (более отрицательные) значения DS отмечены зеленым, худшие значения – красным, остальные значения имеют промежуточную окраску (желтую).

Таблица 22. Выбранные для докинговых исследований биомишени, вовлеченные в патогенез эпилептических расстройств, и примеры их лигандов, обладающих противосудорожными свойствами.

Мишень	PDB ID	Пример	Мишень	PDB ID	Пример
Cav1.2	5KMH	Фелодипин 	5-HT2A	6A93	Флуоксетин 
Cav3.1	6KZP	Месуксимид 	5-HT2B	6DRY	Флуоксетин
Nav1.7	5EK0	Лакосамид 	M2	5ZK8	В ряде исследований показана роль мускариновых M2-рецепторов в механизмах судорог, например[422]
Kv7.2	7CR2	Ретигабин 	D2	6CM4	Лизурид 
ГАМК$_A$	6D6U	Клоназепам 	SV2A	AF_Q7L0J3	Леветирацетам 
GAT-1	7Y7Z	Тиагабин 	Sigma1	6DK0	Фенфлурамин 
AMPA	5L1F	Перампанел	ERK2	1WZY	Известно, что киназа ERK2 вовлечена в механизмы противосудорожного действия [423]
NMDA	7SAC	Дизоцилпин 	ERK1/2	-//-	SL-327 [424] 

Для контроля расчетов в исследовании были использованы известные высокоаффинные лиганды выбранных мишеней: для Cav1.2 канала – верапамил (DS = -

4.056); для Cav3.1 канала – уликсакалтамид (DS = -6.295); для Nav1.7 канала – ранолазин (DS = -5.335); для Kv 7.2 канала – ретигабин (DS = -12.136); для $ГАМК_A$-рецептора – флумазенил (DS = -8.935); для ГАМК-транспортера (GAT-1) – тиагабин (DS = -5.998); для AMPA-рецептора – перампанел (DS = -6.751); для серотониновых рецепторов 5-HT2A и 5-HT2в – флуоксетин (DS = -9.050 и -9.710, соответственно); для мускаринового M2-рецептора – также флуоксетин (DS = -9.635); для дофаминового D2-рецептора – рисперидон (DS = -11.123); для белка SV2A – бриварацетам (DS = -6.910); для σ1-рецептора – галоперидол (DS = -11.412); для киназы ERK2 – тизаткриб (DS = -10.160). Следует отметить, что величины DS для выбранных эталонных лигандов в большинстве случаев имеют близкое сходство со значениями –pKi, что свидетельствует о том, что расчетные значения DS могут напрямую использоваться для оценки аффинности исследуемых веществ к соответствующим биомишеням. Экспериментальные значения – pKi, приведенные в таблице 23 были взяты из базы данных IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY (https://www.guidetopharmacology.org/about.jsp).

В результате мультидокинговых исследований были получены следующие результаты (рис. 97, таблица 23): для активных производных *O*-2-(диалкиламиноалкил)оксимов бензоилпиридинов **2.2.1** среди более вероятных биомишеней оказались следующие: кальциевые каналы, AMPA-рецептор, серотониновые 5-HT2-рецепторы, мускариновый M2-рецептор, дофаминовый D2-рецептор, ERK2-киназа и σ1-рецептор, а также, в меньшей степени, $ГАМК_A$-рецептор.

Наиболее вероятными биомишенями *O*-(арилоил)оксимов бензоилпиридинов **2.2.3** оказались натриевые и калиевые каналы, ГАМКА-рецептор, ГАМК-транспортер, AMPA-рецептор, серотониновые 5-HT2-рецепторы и ERK2-киназа. Для *O*-(аминоалкил)оксимов 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она **2.2.2** лучшие значения DS были получены в отношении кальциевых каналов, натриевого канала, AMPA-рецептора, 5-HT2B-рецептора и σ1-рецептора. Интересно отметить, что именно в этой группе оказалось соединение ГИЖ-345, единственное среди исследованной серии, показавшее высокую теоретическую аффинность к везикулярному белку SV2A.

В группе *O*-(арилоил)оксимов 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она **2.2.4** был выявлен следующий наиболее вероятный набор биомишеней: кальциевые каналы, калиевый канал, ГАМКА-рецептор, ГАМК-транспортер и $5\text{-}HT_{2A}$-рецептор. Сходный набор теоретических биомишеней был получен для O-(циннамоил)оксимов 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она **2.2.5**. При этом для них также наблюдалось достаточно высокие значения теоретических аффинностей к AMPA, NMDA и $5\text{-}HT_{2B}$-рецепторам.

В ряду производных ариламидов (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты **2.2.16** был получен наиболее широкий спектр теоретических биомишеней. За исключением белка SV2A и σ-рецептора, представители этой группы могут иметь достаточно высокую тропность ко всем использованным для анализа мишеням. Среди них наиболее вероятными являются все три типа ионных каналов, ГАМКА-рецептор, ГАМК-транспортер и М2-мускариновый рецептор.

Мультидокинговый анализ производных кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она **2.2.21-2.2.23** показал, что их наиболее вероятными биомишенями являются Cav1.2- и Kv7.2-каналы; $ГАМК_A$-рецептор, GAT-1 транспортер; AMPA, M2 и SV2-рецепторы, а также ERK2-киназа.

Следует отметить, что если в отношении некоторых биомишеней результаты докингового анализа показал достаточно ожидаемые результаты (эти биомишени выделены зеленым), то высокая теоретическая аффинность к отдельным белкам была весьма неожиданна (такие биомишени отмечены розовым).

Помимо сведений о возможных биомишенях новых молекул полученные данные являются подтверждением гипотезы мультитаргетности соединений с противосудорожной активностью.

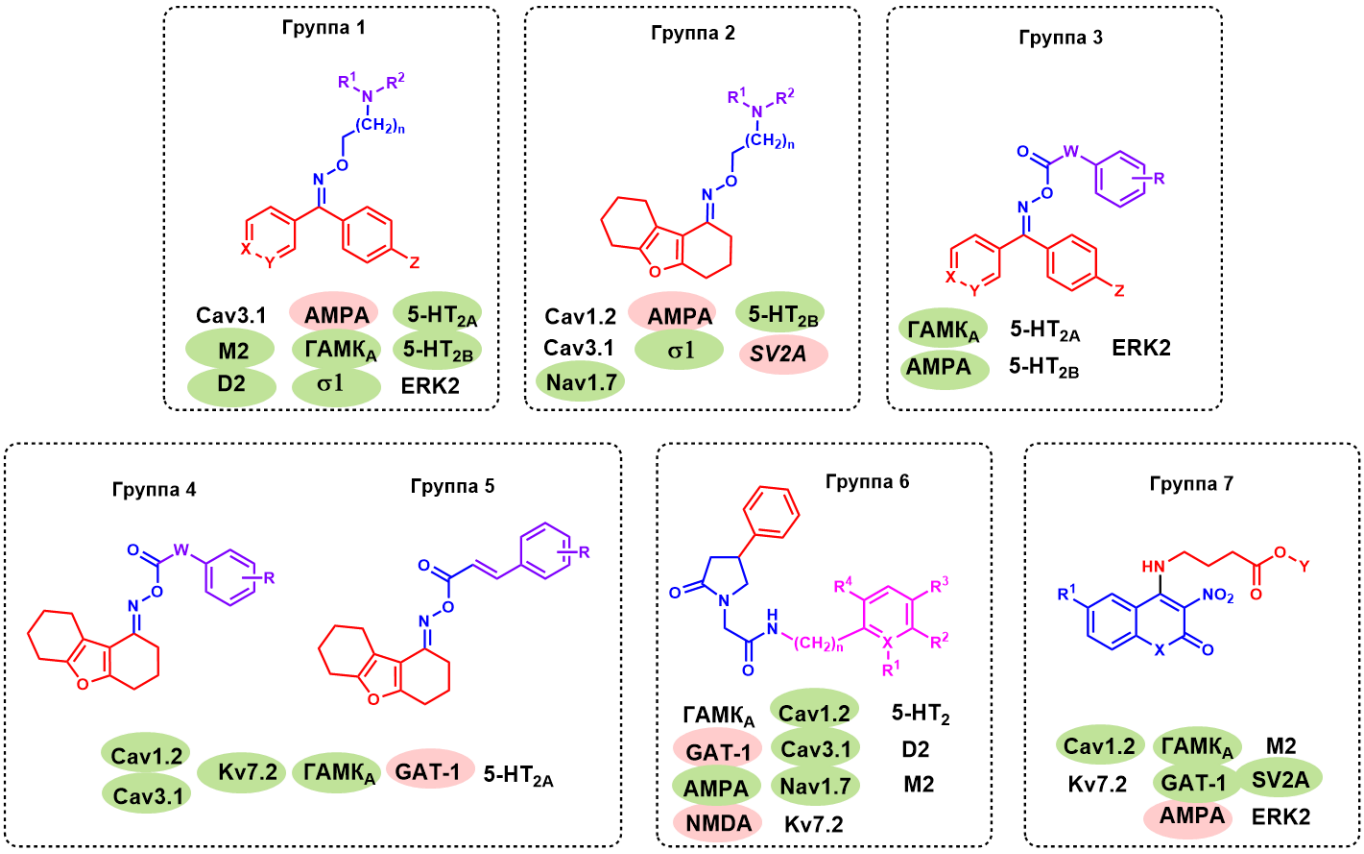


Рисунок 97. Спектры наиболее вероятных биомишеней соединений групп **2.2.1-2.2.5**, **2.2.16** и **2.2.21-2.2.23** с противосудорожной активностью по данным молекулярного докинга

Таблица 23. Результаты мультидокингового исследования соединений групп **2.2.1-2.2.5**, **2.2.16** и **2.2.21-2.2.23** с противосудорожной активностью.

Биомишень:	**Cav1.2**	**Cav3.1**	**Nav1.7**	**Kv7.2**	**GABA-A**	**GAT-1**	**AMPA**	**NMDA**	**5-HT2A**	**5-HT2B**	**M2 Musc**	**D2**	**SV2A**	**Sigma1**	**ERK2**
PDB ID:	**5KMH**	**6KZP**	**5EK0**	**7CR2**	**6D6U**	**7Y7Z**	**5L1F**	**7SAC**	**6A93**	**6DRY**	**5ZK8**	**6CM4**	**AF_Q7L0J3**	**6DK0**	**6SLG**
Соединения↓	***O*-2-(диалкиламиноалкил)оксимы бензоилпиридинов**														
ГИЖ-298	-3.006	-6.968	-4.500	-5.762	-6.759	-4.887	-5.149	-5.509	-7.657	-7.264	-8.622	-7.700	-	-7.222	-5.093
ГИЖ-162	-3.361	-4.385	-3.537	-6.364	-5.877	-4.370	-5.094	-5.209	-7.606	-6.002	-11.153	-7.996	-1.789	-7.952	-2.961
ГИЖ-301	-4.116	-5.731	-3.713	-5.441	-7.160	-4.842	-5.248	-6.022	-7.713	-7.706	-7.023	-7.331	-	-8.869	-4.908
ГИЖ-292	-5.585	-6.519	-3.860	-7.018	-6.253	-4.774	-6.241	-6.270	-7.970	-7.907	-11.648	-7.702	4.390	-10.236	-4.363
***O*-(арилоил)оксимы бензоилпиридинов**															
ГИЖ-277	-2.991	-4.681	-4.624	-9.376	-6.843	-6.172	-5.809	-	-7.609	-8.035	-8.560	-5.917	-	-6.149	-4.782
ГИЖ-323	-3.686	-5.061	-5.120	-8.893	-9.085	-4.039	-5.659	-6.276	-7.803	-8.739	-8.985	-5.345	-	-5.735	-6.124
ГИЖ-275	1.387	-7.042	-4.455	-9.311	-9.106	-3.888	-5.346	-	-8.569	-7.270	-6.387	-7.122	-	-4.005	-3.674
ГИЖ-311	-3.921	-4.314	-3.779	-9.078	-5.447	-6.020	-6.137	-	-7.997	-6.957	-8.794	-6.149	-	-6.152	-4.350
***O*-(аминоалкил)оксимы 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b*,*d*]фуран-1(2*H*)-она**															
ГИЖ-343	-3.834	-3.739	-4.495	-7.417	-6.183	-5.276	-5.133	-6.535	-6.665	-6.909	-9.856	-6.916	-	-6.379	-3.796
ГИЖ-345	-6.314	-6.148	-4.844	-4.451	-6.276	-1.882	-5.694	-4.965	-5.652	-8.379	-4.659	-7.310	-8.166	-6.614	-3.933
ГИЖ-347	-4.418	-3.544	-4.256	-5.575	-6.564	-4.167	-5.637	-5.149	-7.173	-8.471	-9.914	-6.632	-	-11.107	-3.635
***O*-(арилоил)оксимы 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b*,*d*]фуран-1(2*H*)-она**															
ГИЖ-276	-5.444	-6.558	-4.160	-8.821	-7.317	-4.883	-4.715	-0.844	-7.378	-1.739	-4.728	-7.286	-	-7.514	-3.243
ГИЖ-328	-5.056	-5.064	-3.958	-9.580	-8.119	-5.095	-5.264	-6.654	-7.592	-6.960	-4.984	-5.794	-	-7.817	-3.268
ГИЖ-332	-3.900	-5.746	-3.420	-9.376	-7.184	-5.397	-4.805	-5.620	-9.334	-7.316	-5.122	-5.919	-	-6.556	-5.422
***O*-(циннамоил)оксимы 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b*,*d*]фуран-1(2*H*)-она**															
ГИЖ-272	-4.991	-8.021	-3.923	-9.997	-6.294	-5.301	-5.865	-6.537	-7.049	-3.687	-8.654	-6.490	-	-3.351	-3.130
ГИЖ-348	-2.983	-8.456	-3.642	-8.975	-6.207	-5.447	-5.281	-6.210	-8.116	-7.481	-7.780	-7.706	-	1.084	-3.280
ГИЖ-351	-2.988	-7.147	-3.546	-8.872	-5.769	-5.765	-5.997	-6.768	-9.179	-8.161	-7.757	-5.611	-	-4.214	-3.393
ГИЖ-352	-4.364	-3.660	-2.288	-7.867	-6.818	-5.318	-4.949	-6.382	-9.945	-8.133	-6.688	-5.568	-	-5.000	-3.709
MBS-4	-3.153	-6.350	-3.894	-7.801	-7.301	-4.650	-6.596	-6.447	-8.080	-8.194	-8.503	-5.688	-	-4.258	-3.113
Ариламиды (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты															
ГИЖ-290	-6.088	-7.509	-4.662	-9.455	-8.582	-4.790	-6.119	-5.886	-7.747	-6.307	-9.910	-6.491	-	-7.112	-2.572
ГИЖ-287	-6.049	-5.811	-4.746	-10.467	-11.036	-6.059	-5.896	-5.858	-8.703	-6.440	-9.904	-4.537	-	-7.896	-4.782
ГИЖ-295	-3.973	-5.755	-4.535	-10.930	-7.952	-4.901	-4.734	-6.104	-7.650	-8.049	-9.916	-7.493	-	-8.815	-3.588
ГИЖ-296	-5.648	-6.020	-5.283	-9.578	-7.766	-5.651	-5.379	-5.833	-8.813	-9.029	-9.709	-8.351	-	-7.893	-3.033
ГИЖ-305	-4.991	-6.321	-4.889	-9.733	-9.772	-4.739	-5.315	-6.453	-8.024	-7.697	-10.468	-8.599	-	-7.910	-6.259
4-ГАМК-3-нитрокумарины, 1-тиокумарины, хинолин-2-оны															
ГМ-1	-7.255	-4.931	-4.061	-8.000	-7.865	-5.360	-5.169	-4.575	-6.618	-7.012	-7.608	-5.712	-7.419	-6.277	-5.096
ГМ-3	-7.995	-6.336	-3.645	-6.687	-7.752	-5.938	-5.872	-4.333	-5.462	-6.289	-7.758	-5.824	-7.009	-5.836	-5.398
ГМ-7	-3.957	-5.366	-4.005	-6.581	-7.885	-5.812	-5.793	-7.341	-5.953	-6.434	-9.431	-4.988	-4.182	-6.218	-7.796
Эталонные лиганды															
Название:	**Верапамил**	**Уликсаколтамид**	**Ранолазин**	**Ретигабин**	**Флумазенил**	**Тиагабин**	**Перампанел**	**S(+)-кетамин**	**Флуоксетин**	**Флуоксетин**	**Флуоксетин**	**Рисперидон**	**Бриварацетам**	**Галоперидол**	**PP[1]**
DS:	-4.056	-6.295	-5.335	-12.136	-8.935	-5.998	-6.751	-4.872	-9.050	-9.710	-9.635	-11.123	-6.910	-11.412	-9.089
-pKi:	-6.027	-6.796	-5.490	-6.824	-9.097	-6.553	-6.614	-6.018	-7.260	-5.600	-5.569	-9.357	-7.000	-9.081	-6.252

[1] PP = 1-аллил-5-(2-фенилпиразоло[1,5-a]пиридин-3-ил)-1*H*-пиразоло[3,4-c]пиридазин-3-амин

На рисунке 98 в качестве примера приведены результаты молекулярного докинга соединения ГИЖ-298 к восьми вероятным биомишеням препарата в 3D-проекции.

Ключевыми взаимодействиями молекулы ГИЖ-298 с сайтом связывания Cav3.1 канала являются π-π стэкинг фенильного кольца препарата с остатком PHE956 и гидрофобное взаимодействие бироматической части молекулы с последовательностями GLY951-LEU959 и LEU1498-LEU1506. В сайте связывания ГАМКА-рецептора ГИЖ-298 пиридиновым кольцом образует двусторонний π-π стэкинг с TYR210 и HIE102. Также молекула препарата имеет водородную связь атома кислорода морфолинового цикла с ASN60. Для натриевого канала Nav1.7 среди основных связей «лиганд-мишень» было π-π стэкинговое взаимодействие фенильного кольца с TYR1537 и пиридинового цикла с TRP1538. В активном сайте NMDA рецептора основным являлось гидрофобное взаимодействие ароматических колец и алифатических цепей ГИЖ-298 с последовательностями VAL640-THR647 и ALA640-ALA645. В случае 5-HT2A-подтипа серотонинового рецептора было выявлено двустороннее π-π стэкинговое взаимодействие фенильного цикла молекулы ГИЖ-298 с TRP336 и PHE340, а также ионная связь атома азота морфолина с ASP155. Для 5-HT2B-подтипа серотонинового рецептора также фиксировалось ионное взаимодействие морфолинового азота с ASP135 и наблюдалась водородная связь атома азота пиридина с GLN359 и гидрофобные взаимодействия ароматических колец с остатками сайта связывания. Среди ключевых взаимодействий ГИЖ-298 с ERK2-киназой выявлялись гидрофобное взаимодействие с последовательностями ASN154-LEU157, водородная связь атома кислорода морфолина с GLU109 и зарядовый контакт π-системы ароматических колец с последовательностями ALA52-LYS54, GLU71 и ILE103-GLN105. Наконец, в случае σ1-рецептора наблюдается гидрофобное взаимодействие биароматической системы ГИЖ-298 с аминокислотными последовательностями ILE178-LEU186 и TYR103-PHE107, а также ионное взаимодействие азота морфолинового кольца с GLU172 и π-катионное взаимодействие с PHE107.

Таким образом, в лиганд-рецепторном взаимодействии соединения ГИЖ-298 важнейшую роль играет, прежде всего, π-π стэкинговые и гидрофобные взаимодействия ароматических колец молекулы с арил-содержащими или липофильными остатками аминокислот.

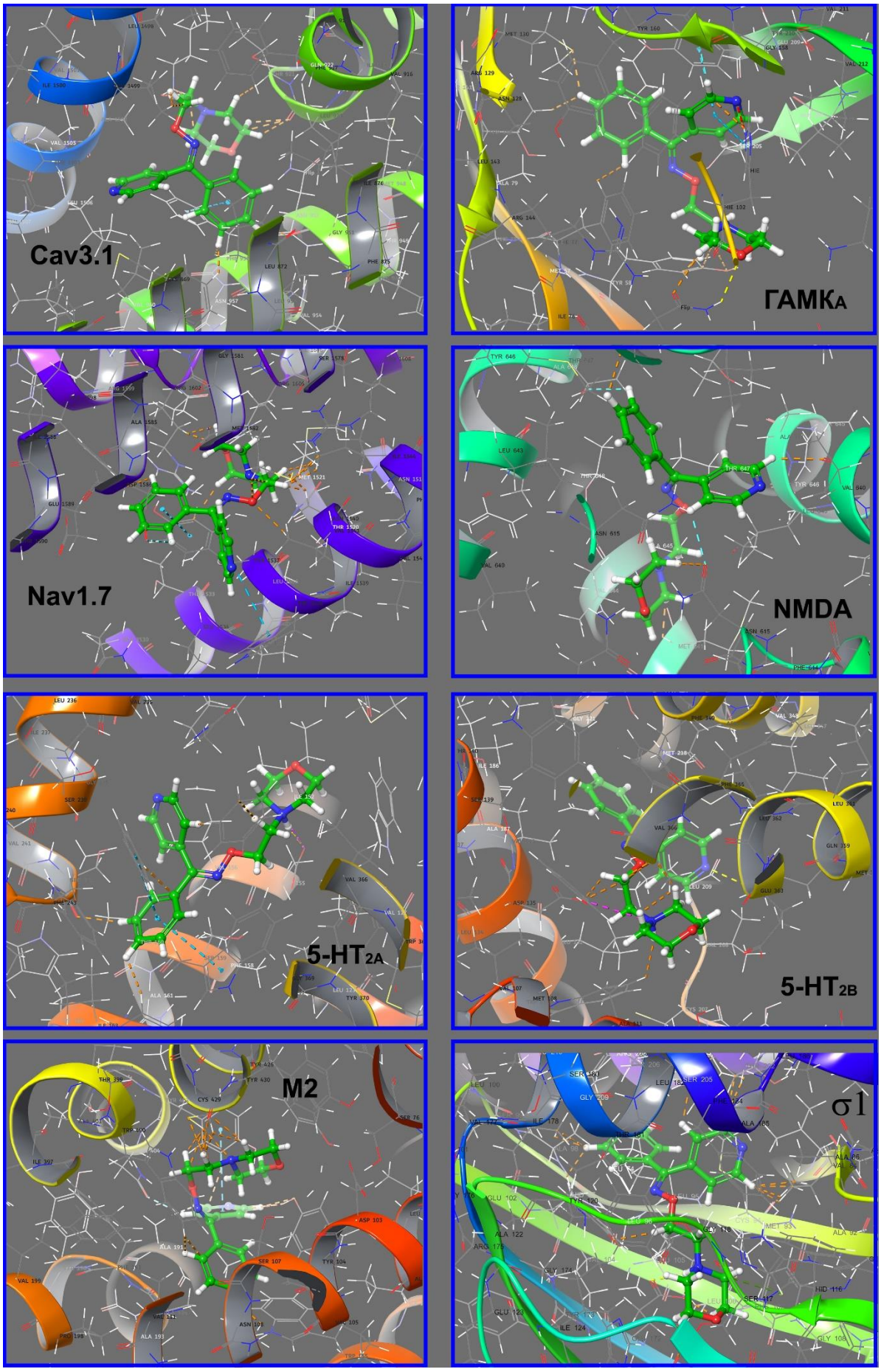


Рисунок 98. 3D-проекция молекулярного докинга ГИЖ-298 его наиболее вероятными биомишенями

В качестве еще одного примера визуализации результатов молекулярного докинга на рисунке 99 представлены данные расчетов для производного 4-фенилпирролидона ГИЖ-290.

Во взаимодействии ГИЖ-290 с кальциевым каналом Cav1.2 важную роль играет водородная связь пирролидонового кислорода молекулы с THR1206, а также гидрофобное взаимодействие с PHE1171-LEU1176. В случае канала Cav3.1 фиксируется π-π стэкинг фенильной группы ГИЖ-290 с PHE956 и водородная связь анилидной NH-группы с LEU920. В активном сайте натриевого канала Nav1.7 наблюдается π-π стэкинговое взаимодействие диметилфенильной группы с TRP1538 и водородная связь NH-группы с ASP1586. В аффинности к сайту связывания калиевого канала Kv7.2 важную роль имеет водородная связь анилидного NH с LEU299 и гидрофобные взаимодействия ароматических колец. В случае ГАМКА-рецептора в активном сайте были определены две водородные связи с ГИЖ-290: пирролидонового кислорода с ALA161 и анилидного кислорода с THR142. В лиганд-рецепторном взаимодействии ГИЖ-290 с AMPA-рецептором также важную роль имели водородные связи: анилидной NH-группы с SER516 и атома кислорода пирролидона с TYR616. Основной вклад в лиганд-рецепторное взаимодействие ГИЖ-290 с M2- и NMDA-рецепторами вносят липофильные контакты ароматических фрагментов молекулы с сайтами связывания белков.

Таким образом, ключевыми взаимодействиями молекулы ГИЖ-290 с его наиболее вероятными биомишенями являются водородные связи с ее амидными группами и гидрофобное и π-π стэкинговое взаимодействие с ароматическими фармакофорами.

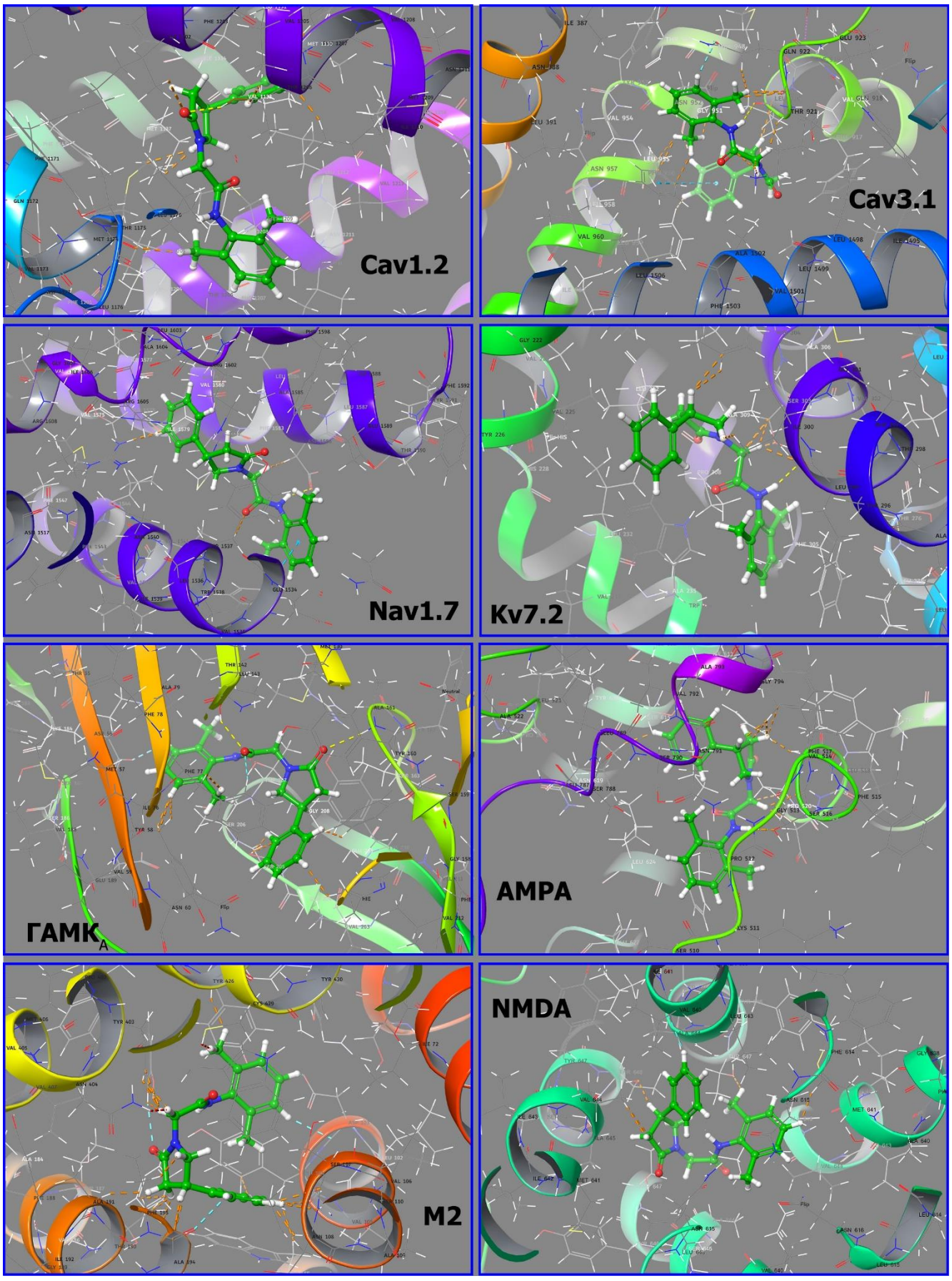


Рисунок 99. 3D-проекция молекулярного докинга ГИЖ-290 с его наиболее вероятными биомишенями

2.2.4. Анализ механизмов действия лидерного соединения ГИЖ-298 с противосудорожной активностью

2.2.4.1. Анализ возможных биомишеней ГИЖ-298 *in vitro*

С учетом данных о компонентах механизмов действия соединений, использовавшихся в дизайне группы производных бензоилпиридинов, и данных, полученный при проведении молекулярного докинга, было проведено *in vitro* исследование возможных взаимодействий соединения ГИЖ-298 с набором рецепторов и ионных каналов (таблица 24).

Таблица 24. *In vitro* радиолигандный анализ сродства ГИЖ-298 в отношении различных биомишеней.

Биомишень	**Тип анализа**	**Радиолиганд**	**IC_{50}**
D1(h)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]SCH 23390	>10 мкМ
D2S(h)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]метилспиперон	>10 мкМ
D2S(h)[1]	Агонист радиолиганд	[^{3}H]7-OHDPAT	>10 мкМ
D3(h)	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]метилспиперон	>10 мкМ
NMDA[2]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]МК-801(+)	>10 мкМ
mGluII[2]	Агонист радиолиганд	[^{3}H]LY-354740	>10 мкМ
AMPA[1]	Агонист радиолиганд	[^{3}H]AMPA	>10 мкМ
5-HT1A(h)[1]	Агонист радиолиганд	[^{3}H]8-OHDPAT	>10 мкМ
5-HT2A[2]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]кетансерин	>10 мкМ
5-HT2C(h)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]месулергин	>10 мкМ
L-Ca^{2+}-канал (сайт дигидропиридинов)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]нитредипин	>10 мкМ
L-Ca^{2+}-канал (сайт дилтиазема)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]дилтиазем	>10 мкМ
L-Ca^{2+}-канал (сайт верапамила)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]D888	>10 мкМ
N-Ca^{2+}-канал[1]	Антагонист радиолиганд	[^{125}I]ω-конотоксин GVIA	>10 мкМ
Na^+-канал[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]батрахотоксинин	>10 мкМ
D-транспортер(h)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]BTCP	>10 мкМ
5-HT-транспортер (h)[1]	Антагонист радиолиганд	[^{3}H]имипрамин	>10 мкМ
σ1-рецептор[2]	**Агонист радиолиганд**	**[^{3}H]пентазоцин**	**1 мкМ**
[1] – данные, полученные в Eurofins Discovery [2] – данные, полученные в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»			

При этом в этот перечень были включен дофаминовые рецепторы (D1, D2 и D3), AMPA-рецептор, серотониновые рецепторы (5-HT1A и 5-HT2C); Ca^{2+}-каналы L-типа (все сайты – дигидропиридиновый, дилтиаземовый и сайт верапамил), Ca^{2+}-каналы N-типа, Na^{+}-канал, дофаминовый транспортер, серотониновый транспортер и σ1-рецептор. Анализ сродства соединений к перечисленным биомишеням осуществлялся радиолигандным методом, используемые радиолиганды приведены в таблице 24. Большинство исследований было проведено в компании Eurofins Discovery (Франция) и в лаборатории радиоизотопных исследований ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (руководитель д.м.н., проф. Г.И. Ковалев); радиолигандный анализ аффинности к σ1-рецептору был осуществлен совместно с отделом фармакологической генетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (руководитель академик С.Б. Середенин).

По результатам исследования установлено, что ГИЖ-298 обладает микромолярной аффинностью к σ1-рецептору (IC_{50} 1 мкМ), при этом в отношении всех остальных биомишеней величина IC_{50} превосходила значение в 10 мкМ, что, однако, не исключает возможность их вовлеченности в механизмы действия ГИЖ-298 в более высоких концентрациях соединения. Лигандные свойства ГИЖ-298 к σ1-рецептору хорошо кореллируют с результатами молекулярного докинга, согласно которым данное вещество имеет хорошую расчетную эффективность взаимодействия с активным сайтом белка.

2.2.4.2. Анализ участия предполагаемых биомишеней в механизме противосудорожного действия ГИЖ-298 *ex vivo*

С целью изучение участия глутаматных, дофаминовых и серотониновых рецепторов в механизме противосудорожного действия ГИЖ-298 был проведен анализ соответствующего рецепторного профиля мозга крыс (NMDA-, mGluII-, mGluR2/3-, 5-HT_{2A}- и D2-рецепторы) после тонико-клонических судорог, вызванных однократным воздействием МЭШ. Исследование было проведено в отделах психофармакологии и радиоизотопных исследований ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» [425, 426].

Воздействие электрошоком приводило к увеличению на 27% плотности (B_{max}) NMDA-рецепторов в гиппокампе и снижению на 25% количества mGluII-рецепторов (mGluR2/3) во фронтальной коре, при этом количественные показатели 5-HT_{2A}-рецепторов во фронтальной коре не изменялись. ГИЖ-298 при однократном введении в дозе 60 мг/кг устранял судорожные проявления, но не противодействовал вызванному МЭШ количественному изменению глутаматных рецепторов и не влиял на них в условиях

нормы, без МЭШ. В тестах на мышах субхроническое 5-дневное воздействие МЭШ снижало на 17% плотность (B_{max}) D2-рецепторов в стриатуме. ГИЖ-298 при 5-дневном введении в дозе 60 мг/кг устранял клонико-тонические судороги у мышей и препятствовал снижению количества D2-рецепторов на мембранах стриатума, а также на 13% увеличивал их количество у мышей без МЭШ в той же структуре. Полученные данные свидетельствуют о том, что противосудорожные эффекты ГИЖ-298 сопровождаются восстановлением количества D2-рецепторов в стриатуме и могут указывать на то, что D2-рецепторы могут являться первичной биомишенью соединения, что согласуется с результатами молекулярного докинга.

Также в совместной работе вышеупомянутых подразделений ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и лаборатории молекулярных механизмов биологической адаптации Института молекулярной биологии имени Энгельгарта было проведено исследования возможной вовлеченности в механизм противосудорожного действия ГИЖ-298 киназы ERK1/2 (киназы, регулируемые внеклеточными сигналами) [426]. Известно, что ERK участвуют в активности нейронов и различных формах синаптической пластичности. При этом изменения функциональной активности ERK наблюдаются при судорожных состояниях, в частности при эпилепсии. Было установлено, что воздействие МЭШ на мышей вызывало увеличение фосфорилирования ERK1/2 и синапсина I в стриатуме, тогда как ГИЖ-298 после МЭШ снижал уровни как фосфо-ERK1/2, так и фосфосинапсина I, что коррелировало со снижением интенсивности судорог у мышей. Кроме того, ГИЖ-298 подавлял фосфорилирование ERK1/2 в клетках нейробластомы человека SH-SY5Y в терапевтических концентрациях. Таким образом, регуляция активности киназ ERK1/2 является одним из возможных компонентов механизма противосудорожного действия ГИЖ-298. Эти результаты также имеют согласованность с данными молекулярного докинга, согласно которым соединение ГИЖ-298 имеет достаточно выраженную энергию взаимодействия с активным сайтом ERK-киназы.

2.2.4.3. Нейрохимическое исследование ГИЖ-298 на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс

В лаборатории нейрохимии совместно с отделом психофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» было исследовано влияние ГИЖ-298 на содержание моноаминов и их метаболитов во фронтальной коре, гипоталамусе, прилежащем ядре, стриатуме и гиппокампе мозга крыс Вистар методом ВЭЖХ/ЭД. Было установлено, что ГИЖ-298 в дозе 60 мг/кг вызывает статистически значимое увеличение содержания серотонина и дофамина во фронтальной

коре через 30 мин после введения, а также снижение скорости метаболизма дофамина в дорсальном стриатуме, что можно рассматривать как один из компонентов механизма противосудорожного действия этого соединения [427].

После перенесенного генерализованного тонико-клонического припадка, вызванного МЭШ ГИЖ-298 в дозе 60 мг/кг (в/б) препятствовал увеличению функциональной активности дофаминергической системы и снижению содержания норадреналина в стриатуме, а также восстанавливал нарушенный баланс ГАМК/глутамат и содержание тормозных аминокислот таурина, глицина и ГАМК в гипоталамусе. Это свидетельствует о том, что одним из механизмов противосудорожного действия ГИЖ-298 в тесте антагонизма с МЭШ является модуляция норадренергической нейропередачи в стриатуме, ослабление функциональной активности дофаминергической системы и нормализация баланса тормозных аминокислот в гипоталамусе [428].

Полученные в *ex vivo* экспериментах и нейрохимических исследованиях данные по функциональным механизмам действия соединения ГИЖ-298 являются косвенными доказательствами того, что дофаминовые, серотониновые и ГАМК-рецепторы могут также являться её первичными биомишенями. Это, в свою очередь, коррелирует с результатами мультидокинговых исследований.

2.2.4.4. Выводы по механизмам действия соединения ГИЖ-298

Полученные экспериментальные данные позволяют сделать следующие выводы о возможных биологических мишенях и системах, участвующих в механизмах противосудорожного действия соединения ГИЖ-298:

1. ГИЖ-298 имеет прямое связывание с σ1-рецептором *in vitro* (IC_{50} 1 мкм)
2. ГИЖ-298 подавлял фосфорилирование ERK1/2 как *in vitro*, так и *in vivo*
3. Противосудорожные эффекты ГИЖ-298 сопровождаются восстановлением количества D2-рецепторов в стриатуме крыс.
4. ГИЖ-298 вызывает увеличение содержания серотонина и дофамина во фронтальной коре, а также снижение скорости метаболизма дофамина в дорсальном стриатуме
5. ГИЖ-298 препятствует вызванному МЭШ увеличению функциональной активности дофаминергической системы и снижению содержания норадреналина в стриатуме, а также восстанавливал нарушенные МЭШ баланс ГАМК/глутамат и содержание тормозных аминокислот таурина, глицина и ГАМК в гипоталамусе.

2.2.5. Доклиническая разработка соединения ГИЖ-298 в качестве потенциального противосудорожного средства

Соединение ГИЖ-298 в настоящее время проходит цикл доклинической разработки в профильных подразделениях ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». В таблице 25 кратко суммированы имеющиеся на сегодняшний день результаты этих исследований. Для активной фармацевтической субстанции ГИЖ-298 полностью завершены исследования специфической противосудорожной активности (выполнены в отделе психофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»). В дополнение к основной активности для ГИЖ-298 установлена также анксиолитическая и анальгетическая активность (исследования выполнены в том же отделе). Полностью выполнены исследования фармакокинетики АФС ГИЖ-298 (отдел фармакокинетики), начаты исследования токсикологии этого соединения (отдел токсикологии). Также в настоящее время в лаборатории технологии лекарственных препаратов ведется разработка готовой лекарственной формы ГИЖ-298 в виде таблеток.

Таблица 25. Пройденные этапы доклинической разработки соединения ГИЖ-298 в качестве потенциального противоэпилептического средства

Специфическая активность ГИЖ-298 (исследования выполнены в отделе психофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Модель первично-генерализованных судорог, вызванных электрошоком малой интенсивности	Показана противосудорожная активность ГИЖ-298 в дозах 5; 20 и 60 мг/кг (однократное в/б введение) [387]
Модель парциальных вторично-генерализованных судорог в эксперименте у крыс с хроническим кобальт-индуцированным эпилептогенным очагом	Показана противосудорожная активность ГИЖ-298 в дозе 60 мг/кг (однократное в/б введение, беспородные белые крысы) [387]
Модель эпилептического статуса, вызванного гомоцестеина тиалактоном у кобальт-индуцированных крыс	Показана противосудорожная активность ГИЖ-298 в дозе 60 мг/кг (однократное в/б введение, беспородные белые крысы) [387]
Дополнительные положительные эффекты ГИЖ-298 (исследования выполнены в отделе психофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Анксиолитическая активность ГИЖ-298	Показана анксиолитическая активность ГИЖ-298 в дозе 40 мг/кг при однократном, и при 7-дневном субхроническом в/б введении в тесте ПКЛ (беспородные мыши) [429]
Анальгетическая активность ГИЖ-298	Установлена анальгетическая активность ГИЖ-298 в дозах от 10 до 60 мг/кг (п/о) в широком наборе моделей: формалиновый тест, капсаициновый тест, тест фон Фрея, тест «уксусные корчи», тест

	отдергивание хвоста (белые беспородные мыши) [430]
Оценка возможных побочных эффектов ГИЖ-298	
Тест «оценка пространственной рабочей памяти в Y-образном лабиринте»	ГИЖ-298 в дозе 40 мг/кг (в/б) не нарушает когнитивные функции (беспородные мыши) [429]
Тесты вращающегося стержня и подтягивания на перекладину	ГИЖ-298 в диапазоне доз от 1 до 100 мг/кг не вызывает неврологического дефицита (в/б введение, белые беспородные мыши, белые беспородные крысы) [387]
Оценка токсичности ГИЖ-298 (исследования выполнены в отделе токсикологии и в отделе психофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Острая токсичность у беспородных мышей самцов массой 22-26 г	$ЛД_{50}$ = 316 мг/кг (в/б введение) [387]
Острая токсичность у беспородных мышей массой 18-20 г	$ЛД_{50}$ = 299.6 мг/кг (самки, в/б введение) $ЛД_{50}$ = 302.3 мг/кг (самцы, в/б введение) [431]
Острая токсичность у беспородных мышей самцов массой 18-20 г	$ЛД_{50}$ = 356 мг/кг (самки, п/о введение) $ЛД_{50}$ = 438 мг/кг (самцы, п/о введение) [432]
Фармакокинетика ГИЖ-298 (исследования выполнены в фармакокинетическом отделе ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Методика количественного определения ГИЖ-298 в плазме крови	Разработана и валидирована селективная и чувствительная ВЭЖХ-МС методика количественного определения ГИЖ-298 в плазме крови крыс [433]
Фармакокинетика ГИЖ-298 после однократного в/в введения в дозе 60 мг/кг (беспородные белые крысы)	ГИЖ-298 определяется в плазме крови на протяжении 4 ч. Кажущаяся начальная концентрация (C_0) ГИЖ-298 в плазме крови крыс составила 1402 нг/мл. Период полуэлиминации ($t_{1/2el}$) составил 0.48 ч. Величина кажущегося объёма распределения (Vd) ГИЖ-298 после в/в введения составила 8.71 л/кг [434].
Фармакокинетика ГИЖ-298 после однократного в/ж введения в дозе 60 мг/кг (беспородные белые крысы)	Период полувыведения ГИЖ-298 из плазмы крови составил 0.66 ч. Тканевая доступность ГИЖ-298 в системе «печень – плазма крови» составила 9.98; для почек – 5.53; селезенки – 3.79; скелетных мышц – 1.72 и органа-мишени (головной мозг) – 0.92. Абсолютная биодоступность соединения ГИЖ-298 составила 64.5% [435].
Метаболизм ГИЖ-298	Основными метаболитами ГИЖ-298 в плазме крови и гомогенатах печени являются молекулы с молекулярными ионами 326 (гидроксилированные производные) и 328 m/z (мофолоновое производное) [436]

2.2.5.1. Разработка лабораторного регламента получения фармацевтической субстанции ГИЖ-298

Лабораторный регламент на производство фармацевтической субстанции ГИЖ-298 был разработан и оформлен в соответствии с ОСТом 64-02-003-2002 и ГОСТ 52550-2006.

Лабораторный регламент включает в себя 3 основные стадии технологического процесса (ТП.1.-ТП.3.) (схема 21) и необходимые вспомогательные процедуры (ВР-1 – ВР-2):

ТП.1. Получение Z-оксима 4-бензоилпиридина.

ТП.2. Получение основания Z-*O*-2-морфолиноэтилоксима 4-бензоилпиридина.

ТП.3. Получение оксалата Z-*O*-2-морфолиноэтилоксима 4-бензоилпиридина.

ВР-1. Осушение ДМФА.

ВР-2. Приготовление раствора Z-оксима 4-бензоилпиридина.

ВР-3. Приготовление основания 4-(2-хлорэтил)морфолина.

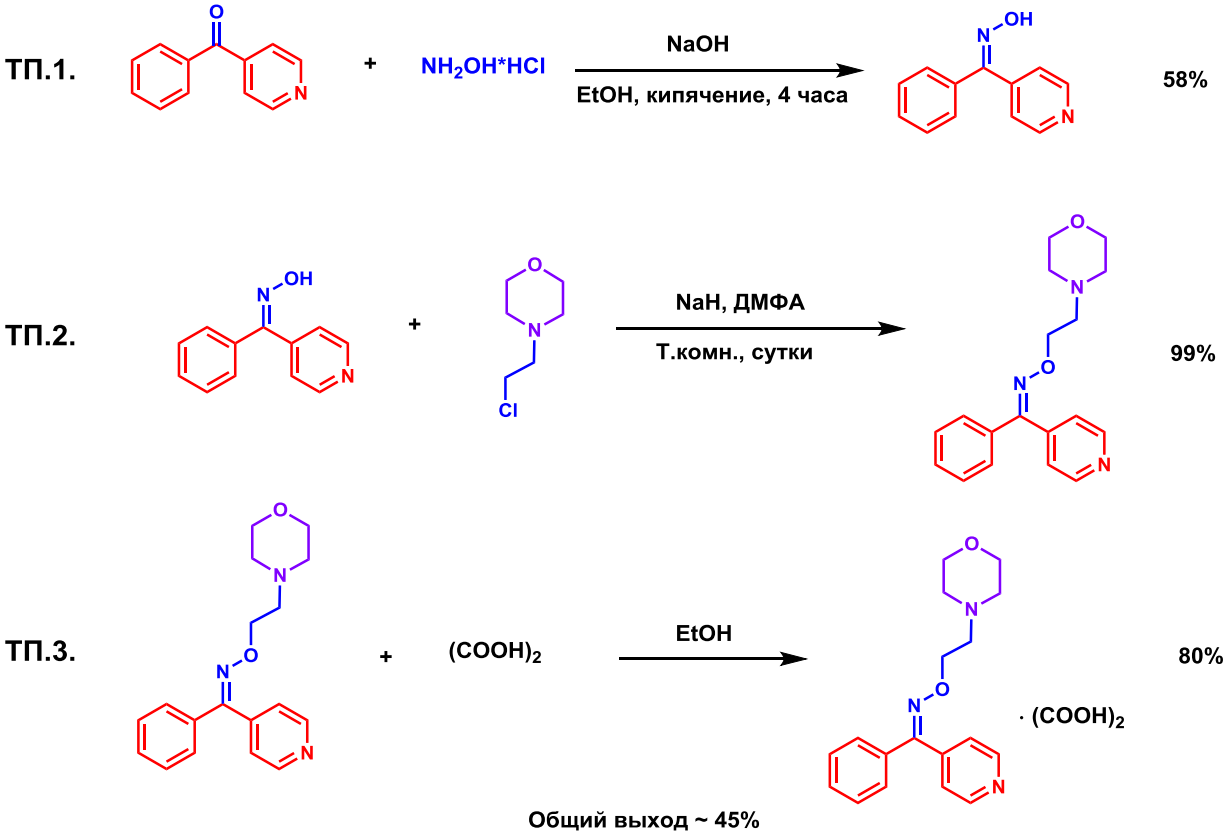


Схема 21. Стадии технологического процесса получения фармацевтической субстанции ГИЖ-298.

Описание стадий технологического процесса (ТП.1.-ТП.3.) и вспомогательных процедур (ВР-1 – ВР-2) приведено в экспериментальной части (раздел 3.1.2.24).

С использованием лабораторного регламента было наработано необходимое количество серий препарата ГИЖ-298 в количествах от 20 до 60 г.

Для контроля производства в лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств (зав. лаб. д.фарм.н. Л.Н. Грушевская) были разработаны методики контроля качества и определения родственных примесей в субстанциях ГИЖ-298.

2.2.6 Заключение по разработке новых потенциальных противосудорожных средств в рядах различных гетероциклических соединений

С использованием стратегии фармакофорного лиганд-ориентированного моделирования нами было предложено 4 новых фармакофорных моделей потенциальных ПЭП, на основе которых было сконструировано несколько новых групп соединений в ряду оксимов бензоилпиридинов, оксимов гексагидродибензофурана, 4-фенилпирролидона, кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она. Для дизайна фармакофорных моделей использовались структуры или компоненты структур следующих классов: селективные ингибиторы обратного захвата серотонина; лиганды $ГАМК_A$-, σ1- и SV_{2A}-рецепторов; GAT_1-ингибиторы; блокаторы ионных каналов; антагонисты AMPA-рецепторов; рацетамы; лиганды SV_{2A}-рецептора; ГАМК-содержащие ПЭП; производные коричной кислоты; а также ряд соединений, обладающих противоэпилептическими свойствами с неустановленными механизмами действия. Для получения серии соединений каждой группы были разработаны удобные методы их синтеза. Во всех новых группах по результатам скрининговых исследований были выявлены вещества с выраженными противосудорожными свойствами, что подтвердило эффективность предложенных фармакофорных моделей. Для ряда соединений были дополнительно выявлены анксиолитические, анальгетические, ноотропные, нейропротекторные и противоишемические свойства. С целью оценки профилей лиганд-рецепторных взаимодействий выявленных активных соединений нами было проведено их мульти-докинговое исследование в отношении большинства биомишеней эпилепсии (Na^+-, K^+-, Ca^{2+}-каналы; $ГАМК_A$-, GAT1-, AMPA-, NMDA-, mGlu-, 5-HT-, D_2-, SV_{2A}-, σ1-рецепторы; ERK_2-киназа), позволившее выявить спектры их наиболее вероятных механизмов действия. На основании анализа связей «структура-противосудорожная активность» были отобраны наиболее активные соединения для дальнейших исследований: производное 4-бензоилпиридина ГИЖ-298, эффективное в широком наборе моделей эпилепсии и обладающее анксиолитической активностью; производное 4-фенилпирролидона ГИЖ-290, сочетающее противосудорожное и прокогнитивное действие; производное гексагидродибензофурана ГИЖ-272, сочетающее противосудорожные и антиишемический свойства; производное кумарина ГГМ-1.

Соединение ГИЖ-298 было выбрано для дальнейшей доклинической разработки в качестве перспективного противоэпилептического препарата. Установлены некоторые компоненты его механизма действия, которые имеют хорошую корреляцию с результатами *in silico*-анализа. Для проведения доклинических исследований в полном объеме нами был разработан лабораторный регламент получения ГИЖ-298.

2.3. Дизайн и синтез новых соединений с кардиотропной активностью

2.3.1. Выдвижение рабочей гипотезы об универсальном биароматическом фармакофоре мультитаргетных кардиопротекторов

Анализ литературных данных по биароматическим соединениям с линейным линкером (БСЛ) с кардиопротекторными свойствами, проведенный в разделе 1.4 настоящего исследования и, более подробно, в обзорах автора настоящего исследования [313, 437–440], позволил выявить единую обобщенную фармакофорную модель кардиопротекторов различных классов с различными биологическими мишенями. Как отмечалось в литературном обзоре, это свидетельствует о структурном подобии мест связывания БСЛ и, следовательно, о мультитаргетности таких веществ.

Данное наблюдение позволило выдвинуть гипотезу об универсальности выявленного биароматического фармакофора для соединений с кардиопротекторной активностью и о возможности его использования в качестве «базового фармакофора» для конструирования новых потенциальных мультитаргетных кардиопротекторных средств.

Для более детального подтверждения данной гипотезы был проведен анализ спектра биологических мишеней для пяти наиболее известных и наиболее изученных кардиопротекторных препаратов с БСЛ-структурой, и их вовлеченности в биологически эффекты этих препаратов. В качестве таких препаратов были выбраны карведилол, ивабрадин, небиволол, ранолазин и верапамил.

Для проведения указанного анализа важно было установить, как определить фармакологическую значимость какой-либо мишени исходя из данных по аффинности к ней молекулы и фармакокинетических показателей препарата? Чтобы ответить на этот вопрос мы сравнили значения фармакокинетического параметра C_{max} (максимальная концентрация в плазме крови) для различных препаратов с разной активностью и их корреляции с аффинностью к их основным биомишеням (таблица 26). Эти данные были получены из публикаций и отчетов о клинических испытаниях. Установлено, что значения pC_{max} и pK_i для лекарственных средств могут отличаться более чем в 2 раза, а pC_{max} может быть как больше, так и меньше pK_i. Особый интерес представляют те случаи, когда pK_i меньше pC_{max}. Наличие таких примеров свидетельствует о том, что клиническую значимость имеют даже те биомишени, сродство к которым как минимум на два порядка ниже его концентрации в плазме.

Одно из объяснений того факта, что во многих случаях значения IC_{50} соединений в отношении их различных биологических мишеней *in vitro* превышают их терапевтические

концентрации, заключается в том, что *in vivo* для них могут быть достигнуты локальные высокие уровни концентраций вследствие их высокой растворимости в липидах и мембранах. С другой стороны, липофильные соединения могут изменять структуру мембраны при распределении в липидных бислоях, оказывая, например, более выраженное воздействие на мембранные каналы [441–444].

Таблица 26. Корреляция фармакокинетического параметра C_{max} различных препаратов с их сродством к основным биомишеням. Данные, собранные из публикаций pubmed и отчетов о клинических испытаниях.

Препарат	**Действие**	**pK_i**	**Основная биомишень**	**Доза, мг**	**pC_{max}**	**pK_i-pC_{max}**
Аторвастатин	Липидоснижающий препарат	8.09	Ингибитор 3-гидрокси-3-метилглутарил кофермент А (HMG-CoA) редуктазы	40	7.67	0.42
Цедираниб	Противоопухолевое средство	9.30	Ингибитор тирозинкиназы рецепторов фактора роста эндотелия сосудов	30	7.03	2.27
CP-778875	Препарат для лечения атеросклероза и дислипидемии	8.15	Агонист α-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом	0.3	7.50	0.66
Диазепам	Анксиолитик	8.31	Положительный аллостерический модулятор $ГАМК_A$-рецептора	10	6.28	2.03
Дигоксин	Кардиотоник	6.60	Ингибитор Na^+,K^+-АТРазы	0.2	8.614	-2.01
Дилтиазем	Антиаритмик	6.95	Блокатор Cav1.2	120	6.44	0.51
Дофетилид	Антиаритмик	7.52	Блокатор hERG	1.5	8.28	-0.76
Эверолимус	Иммуносупрессант и противоопухолевое средство	8.70	Ингибитор mTOR	10	7.20	1.50
Флекаинид	Антиаритмик	5.22	Блокатор Nav1.5	100	6.39	-1.17
Ивабрадин	Антиангинальное средство	5.67	Блокатор HCN-каналов	10	7.28	-1.71
Линаглиптин	Антидиабетическое средство	9.11	Ингибитор DPP_4	5	8.05	1.06
Мибефрадил	Антиангинальное средство	5.57	Блокатор Ca^{2+} каналов Т-типа	200	5.54	0.03
Нифедипин	Гипотензивное средство	6.70	Блокатор Ca^{2+} каналов L-типа	10	6.46	0.24
Хинидин	Антиаритмик	4.41	Блокатор Nav1.5	300	4.75	-0.34
Симвастатин	Липидоснижающий препарат	7.95	Ингибитор HMG-CoA редуктазы	40	7.88	0.07
Тиагабин	Антиконвульсант	6.19	Ингибитор GAT-1	8	6.40	-0.20

С учетом этих данных далее рассмотрены спектры подтвержденных биомишеней вышеперечисленных кардиопротекторных препаратов. Здесь приводятся лишь суммарные данные по значениям аффинности этих соединений в отношении биомишеней без подробного описания вовлеченности каждой из них в кардиопротекторных и

сопутствующих эффектах препаратов. Детально эти данные приводятся в обзоре автора настоящего исследования [13].

Биомишени карведилола

Мультитаргетный профиль карведилола хорошо известен и часто упоминается в литературе [441, 445]. На рисунке 100 представлена диаграмма со спектром биологических мишеней карведилола. Здесь и далее на таких диаграммах показаны максимальные значения сродства препаратов к мишеням при различных литературных данных.

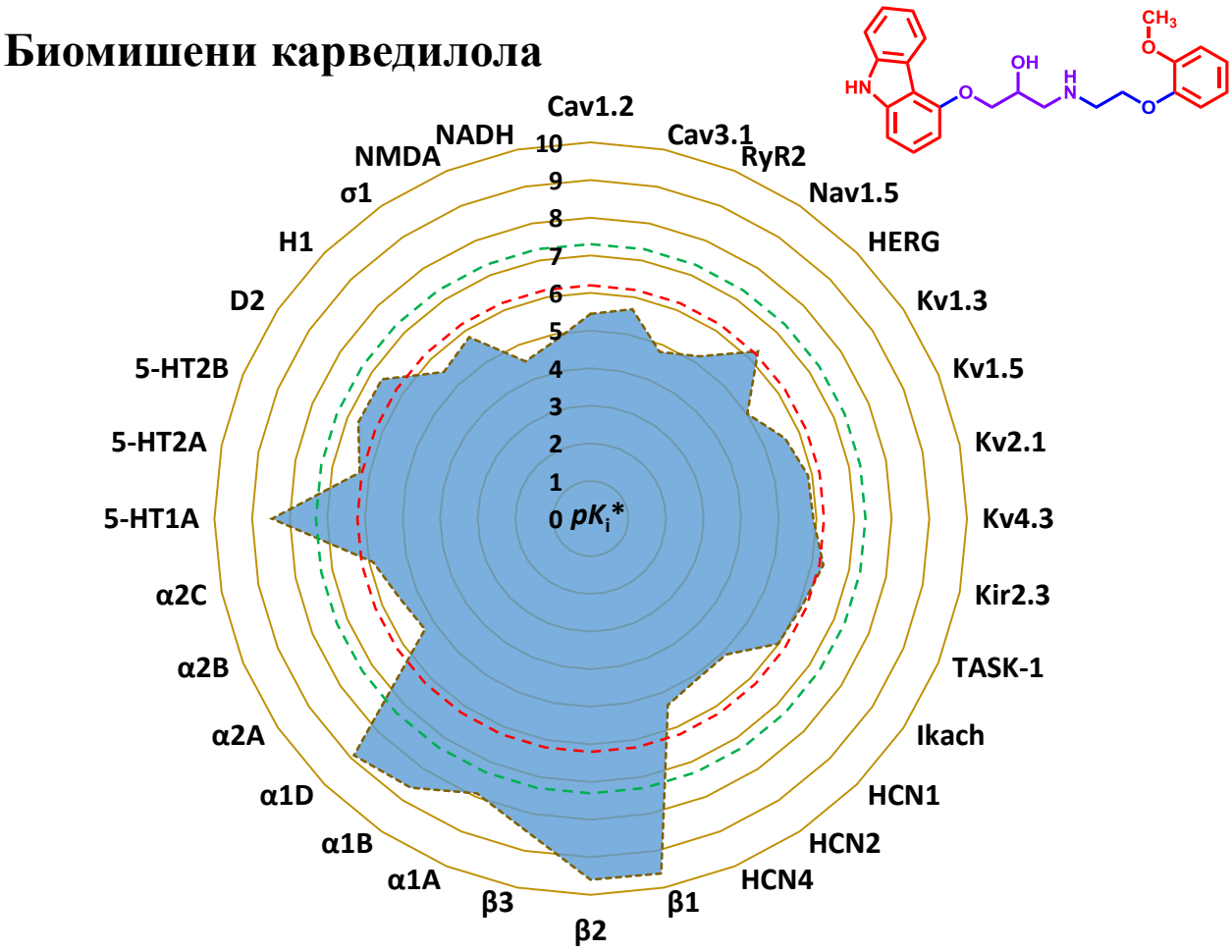


Рисунок 100. Диаграмма биомишеней карведилола. Значения аффинности представлены как pKi*, что означает один из следующих параметров: pKi, pKd или p(IC50). Для каждой мишени бралось наибольшее значение аффинности, при упоминании нескольких значений в литературе. Красные и зеленые пунктирные линии обозначают максимальные и минимальные значения пиковых концентраций карведилола в плазме в клинических исследованиях (pCmax), соответственно.

Значения аффинности представлены как pKi*, что означает один из следующих параметров: pKi, pKd или p(IC_{50}). В данном случае мы делаем допущение, что все эти параметры можно сравнивать, поскольку они схожи. Пунктирными линиями указаны значения максимальных концентраций препарата в плазме крови пациентов (Cmax),

определенные в клинических исследованиях. Красная пунктирная линия соответствует максимальному описанному значению Cmax, а зеленая – минимальному. Эти пунктирные линии позволяют, некоторым образом, отсечь более значимые фармакологические мишени препарата от менее значимых. Однако не следует забывать отмеченный выше факт, что локальные высокие уровни препаратов могут достигать *in vivo* значительно более высоких значений, чем значения аффинности, определяемые *in vitro*, за счет, например, высокой липофильности соединений.

Наиболее фармакологически значимыми мишенями карведилола, значения аффинности к которым значительно превышают его концентрацию в плазме (pC_{max} = 6.2-7.3 [446]) являются β1-, β2-, β3-АР и несколько подтипов α1-АР (pK_i(β1) = 9.6; pK_i(β2) = 9.6; pK_i(β3) = 8.51; pK_i(α1A) = 7.9; pK_i(α1B) = 8.6; pK_i(α1D) = 8.9) [447, 448]. Считается, что эти мишени определяют основной спектр биологической активности препарата: ингибирование β-АР обеспечивает снижение АД, сердечного выброса и снижение ЧСС, а ингибирование α-АР вызывает периферическую вазодилатацию, тем самым снижая системное сосудистое сопротивление.

Интересно отметить, что карведилол также обладает высоким сродством к 5-HT_{1A} рецепторам (pK_i = 8.5), соответствующим сродству к АР, однако участие этой мишени в биологическом действии препарата не изучено [449].

Несомненное фармакологическое значение имеют те биомишени карведилола, сродство к которым находится на уровне концентраций, соответствующих плазменным концентрациям препарата. Среди них ряд калиевых каналов: hERG (pK_i = 6.3) [441]; Kv1.5 (pK_i = 5.6) [441, 450]; Kv2.1 (pK_i = 5.6) [441]; Kv4.3 (pK_i = 5.9) [451]; Kir2.3 (pIC_{50} = 6.3) [452]; TASK-1 (pK_i = 6.1) [453]; I_{KACh} (pK_i = 6.0) [454]. В работах различных авторов отмечается, что антиаритмические свойства карведилола во много обусловлены именно его сродством к калиевым каналам.

Концентрации препарата в плазме также соответствуют сродству карведилола к 5-HT_2-рецепторам (pK_i(5-HT_{2A}) = 6.3; pK_i(5-HT_{2B}) = 6.7) [455]. Препарат имеет аналогичное сродство к D_2-рецепторам (pK_i(D_2) = 6.7), σ1-рецепторам (pK_i(σ1) = 5.8) и H_1-рецепторам (pK_i(H_1) = 5.5) [456, 457]. В литературе отсутствуют исследования по анализу участия этих биомишеней в кардиопротекторных свойствах карведилола. Можно предположить, что перечисленные мишени, в том числе упомянутый 5-HT_{1A} рецептор, могут быть задействованы при наличии положительного нейропсихотропного действия карведилола, благоприятно влияющего на терапию ССЗ. Известно, что карведилол оказывает антидепрессивное действие, сравнимое с эффектом десвенлафаксина, который является ингибитором обратного захвата серотонина и норадреналина [458].

Сродство карведилола к кальциевым каналам несколько ниже его клинически эффективных концентраций в плазме (pIC$_{50}$(Cav1.2) = 5.4; pIC$_{50}$(Cav3.1) = 5.7) [459, 460]. Однако, было высказано предположение, что блокада кальциевых каналов карведилолом связана с его сосудорасширяющим и антипролиферативным действием, а также вовлечена в механизм терапии ХСН.

Карведилол имеет сходные константы ингибирования для натриевых каналов (pIC$_{50}$(Nav1.5) = 5.2) [461], калиевых каналов 1.3-подтипа (pIC$_{50}$(Kv1.3) = 5.0 [462]), HCN каналов (pIC$_{50}$(HCN1) = 5.1; pIC$_{50}$(HCN2) = 5.1, pIC$_{50}$(HCN4) = 5.4) [463]. Данные литературы свидетельствуют об участии этих мишеней в кардиопротекторных свойствах карведилола, оказывающего более благоприятное действие по сравнению с другими β-адреноблокаторами у больных с ХСН.

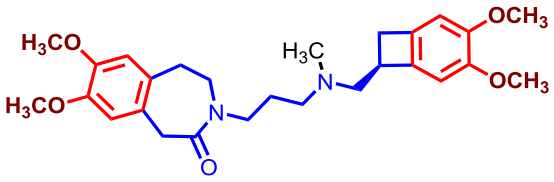
Значимость имеют еще несколько биомишеней, выявленных для карведилола, для которых аффинность более чем на порядок ниже минимальных плазменных концентраций препарата в крови человека, однако даже в отношении них имеются предположения об их причастности к положительным клиническим эффектам этого препарата. Среди них рецептор NMDA (pK_d = 4.5) [464], NADH дегидрогеназа (pK_i = 4.8) [465], RyR2-рецептор (pIC$_{50}$ = 4.8) [466].

Биомишени ивабрадина

Так называемый «селективный и специфический блокатор каналов HCN» ивабрадин, как он чаще всего позиционируется в литературе, на самом деле оказывается не столь селективным и специфичным, поскольку описан ряд других мишеней, которые могут иметь важное физиологическое значение (рис. 101).

Весьма интересно отметить, что для всех биологических мишеней ивабрадина значения констант связывания более чем на порядок превышают его максимальную концентрацию в плазме при самой высокой исследованной дозе (pCmax = 6.9) и более чем на два порядка превышают его значения Cmax при низких дозах (pCmax = 7.7) [467–469]. В то же время в ряде работ по анализу дополнительных мишеней ивабрадина этот факт преподносится как свидетельство отсутствия какой-либо значимости в эффектах препарата, тогда как это же обстоятельство в отношении основной мишени HCN никак не обсуждается. В тех работах, в которых отчетливо отмечается факт несоответствия значений Cmax и констант сродства к биомишеням карведилола, в том числе каналам HCN, предполагается, что препарат может значительно накапливаться в липидных мембранах за счет своей липофильности, что значительно повышает его локальные концентрации вблизи биомишеней [444].

Биомишени ивабрадина



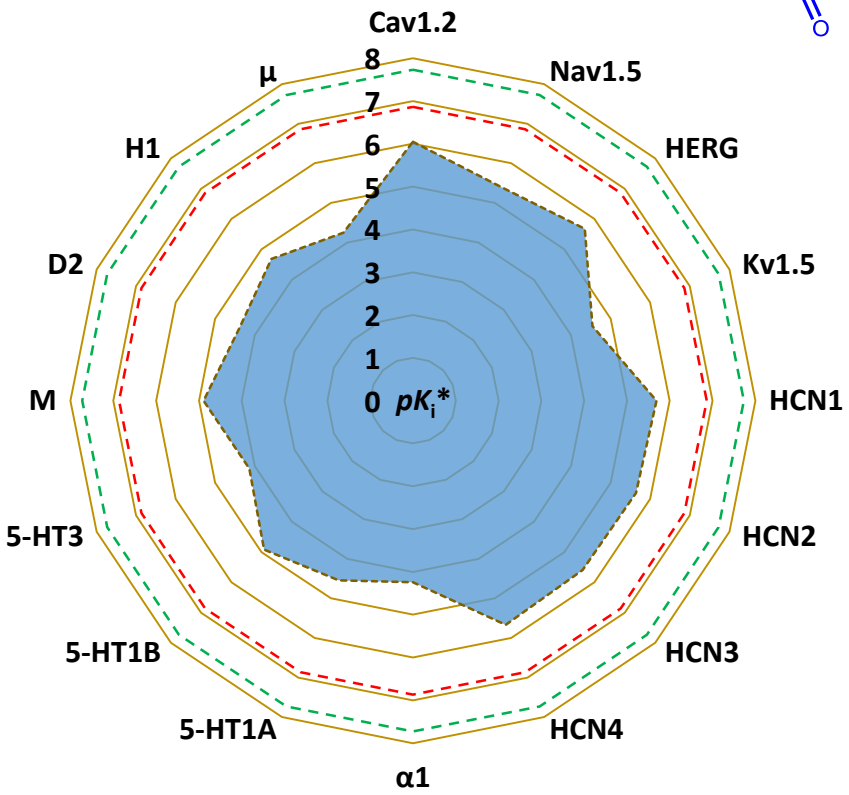


Рисунок 101. Диаграмма биомишеней ивабрадина. Обозначения аналогичны указанным на рисунке 100.

Среди всех идентифицированных молекулярных мишеней ивабрадина различия в их аффинности составляют менее двух порядков, что указывает на возможную фармакологическую значимость для всех из них. Тем не менее анализ литературы позволяет заключить, что помимо блокады HCN-каналов (pIC$_{50}$ = 5.6–5.7) [225], на кардиопротекторные свойства ивабрадина существенное влияние оказывает его связывание с hERG-каналом (pIC$_{50}$ = 5.7) [470] и Nav1.5-каналом (pK_i = 5.4) [471]. Не исключено, что свой вклад вносят и другие ионные каналы: Cav1.2 (pK_i = 6.1) [471] и Kv1.5 (pK_d = 4.5) [472]. Описан также набор неканальных мишеней ивабрадина, включая 5-HT$_1$-рецепторы, α1-АР, D$_2$-рецепторы, М-рецепторы, Н-рецепторы и μ-опиоидные рецепторы (pK_i в диапазоне 4.2-4.9), однако их возможное влияние на эффекты препарата не исследовано [471].

Биомишени небиволола

Небиволол не позиционируется в литературе как мультитаргетный препарат. Наоборот, он считается наиболее селективным β1-адреноблокатором. Тем не менее анализ профиля связывания препарата по данным различных литературных источников указывает на наличие у этого препарата достаточно большого спектра биомишеней, которые могут иметь фармакологическое значение (рис. 102). К сожалению, для большинства дополнительных мишеней небиволола отсутствуют данные об их участии в биологических эффектах, что требует дальнейшего изучения.

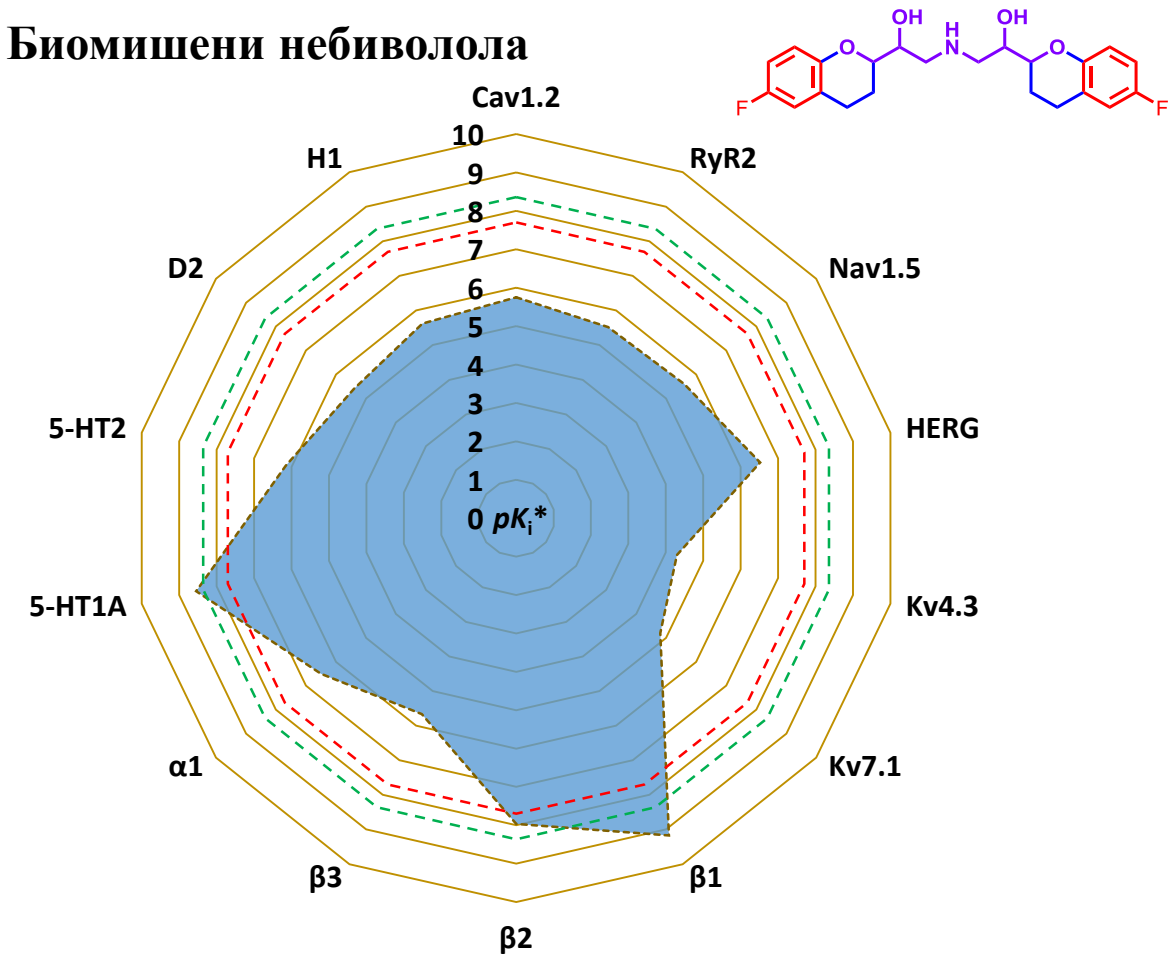


Рисунок 102. Диаграмма мишеней небиволола. Обозначения аналогичны указанным на рисунке 100.

Наибольшим сродством небиволол обладает в отношении β1-AR (pK_i = 9.2) [456], который считается ключевой биомишенью препарата. Это значение почти на порядок ниже значения концентрации в плазме для самой низкой изученной дозы небиволола (5 мг, pC_{max} = 8.4) [473–475]. Препарат имеет такое же высокое сродство к 5-HT_{1A} рецептору (pK_i = 8.6) [476], который может быть вовлечен в реализацию его сосудорасширяющего действия. Считается, что как β2- (pK_i = 8.0), так и β3-AP (pK_i = 5.7) [477], а также α1-AP

(pK_i = 6.5) [478] также могут способствовать сосудорасширяющему действию небиволола за счет увеличения продукции NO эндотелиальными клеткам.

Сродство небиволола ко всем другим биомишеням более чем на порядок превышает значение концентрации в плазме для самой высокой изучаемой дозы препарата (20 мг, pC_{max} = 7.7), но они также могут быть вовлечены в его биологические эффекты. В частности, считается, что антиаритмический эффект небиволола может быть обусловлен ингибированием им RyR2 рецептора, который подавляет высвобождение кальция (pK_i ~ 5.5 в расчете на активные дозы) [479].

Установлена блокирующая активность небиволола в отношении калиевых каналов (pK_i(hERG) = 6.5; pK_i(Kv4.3) = 4.3; pK_i(Kv7.1) = 4.8), натриевых каналов (pK_i(Nav1.5) = 5.6), кальциевых каналов (pK_i(Cav1.2) = 5.8), а также ингибирующая активность в отношении дофаминовых ($pK_i(D_2)$ = 5.4), гистаминовых ($pK_i(H_1)$ = 5.6) и серотониновых (pK_i(5-HT_2) = 6.2) рецепторов [456, 480, 481]. Однако вовлеченность этих биомишеней в биологическое действие препарата не исследовано.

Биомишени ранолазина

Ранолазин имеет несколько молекулярных мишеней и не обладает высокой специфичностью. На рисунке 103 представлена диаграмма со спектром биологических мишеней ранолазина. Анализ этой диаграммы свидетельствует о том, что аффинность препарата к большинству доказанных биологических мишеней достаточно сходна, разброс не превышает двух порядков, а для большинства находится в пределах одного порядка. При этом характеристики связывания с этими мишенями находятся в основном в пределах плазменных концентраций препарата (pC_{max} = 4.9-5.5) [482, 483]. Интересно отметить, что значение K_i для $I_{Na,L}$, который считается основной мишенью ранолазина, меньше, чем для некоторых других мишеней. В то время как максимальное значение pK_i для Nav1.5 составляет 5.23 [484], аффинность ранолазина в отношении Kv4.3 и Kir составляет 6.49 [485] и 6.04 [486], соответственно, а сродство к β1- и β2-АР – 5.8 и 6.3, соответственно [487].

Различные исследования показывают, что антагонистические свойства β-АР вовлечены в сосудистых эффектах ранолазина. В то же время сродство ранолазина к различным калиевым каналам, включая hERG (pK_i = 5.1) [488] и TASK-1 (4.51) [322], во всяком случае в некоторой степени определяет его антиаритмический эффект.

Широко изучено взаимодействие ранолазина с рядом различных натриевых каналов, среди которых, помимо Nav1.5, исследованы Nav1.1 (активные дозы 1–3 μmol) [489], Nav1.2 (активные дозы 10–100 μmol) [490], Nav1.4 (pK_i = 5.42) [491], Nav1.7 (pK_i = 5.49) и Nav1.8 (pK_i = 5.37) [492]. Считается, что способность ранолазина связываться с

этими каналами, присутствующими в большей степени в центральных и периферических нейронах, а также в скелетных мышцах, определяет его способность предотвращать невропатические боли, миотонию и даже эпилепсию.

В терапевтически значимой концентрации ранолазин ингибирует RyR2 рецепторы (pK_i = 5.0) [493]. Имеются данные, что антиаритмический эффект препарата обусловлен этой биомишенью.

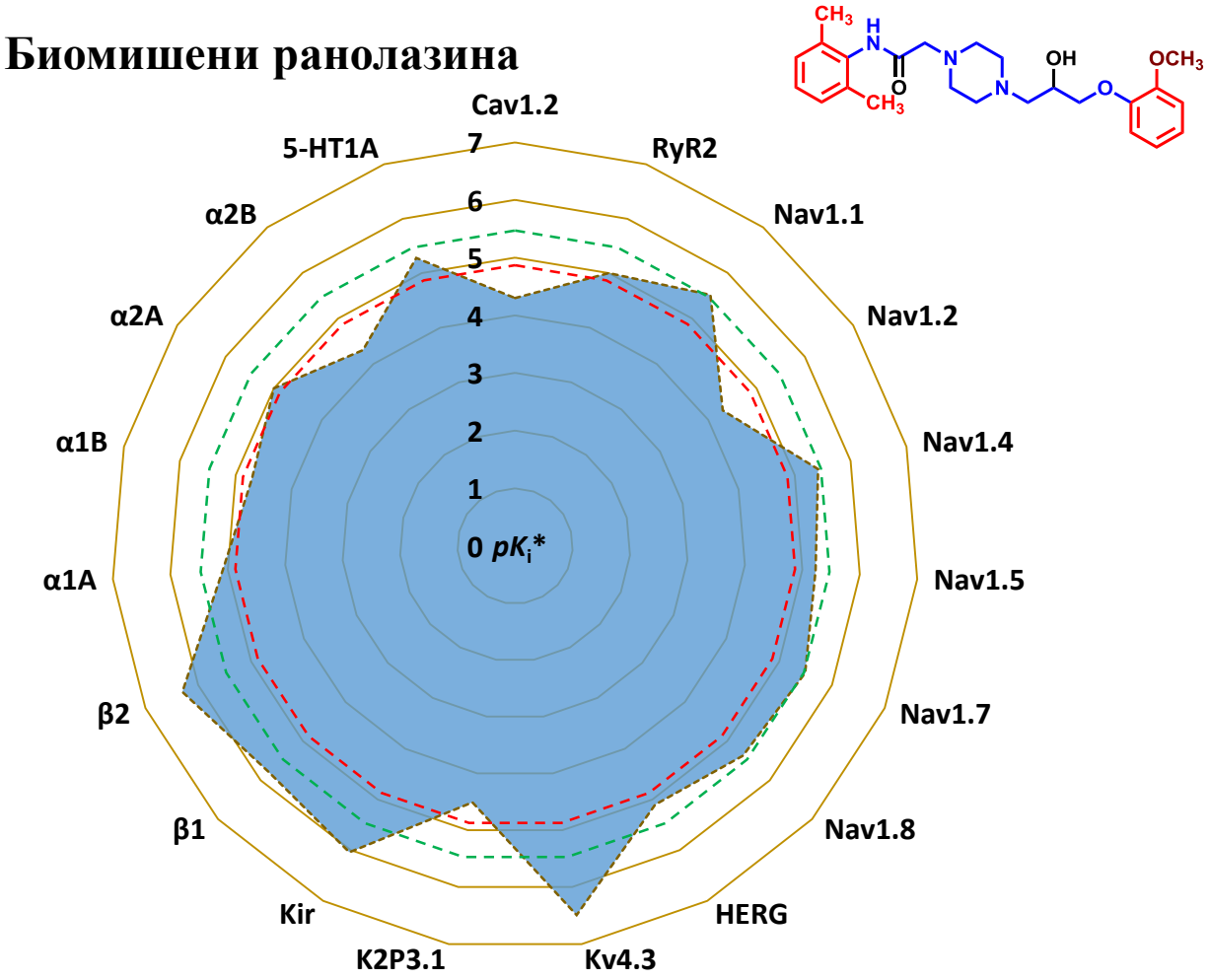


Рисунок 103. Диаграмма мишеней ранолазина. Обозначения аналогичны указанным на рисунке 100.

Было показано, что ранолазин обладает сродством к α-АР (pK_i(α1A) = 5.09; pK_i(α1B) = 4.71; pK_i(α2A) = 5.0; pK_i(α2B) ~ 4.3), что может быть связано с его сосудосуживающими и антиангинальными свойствами [487, 494].

Наконец, имеются сведения о способности ранолазина блокировать канал Cav1.2 (pK_i = 4.3) [484] и 5-НТ-рецепторы, прежде всего, 5-HT_{1A} (pK_i = 5.28) и некоторые другие [495]. Однако их роль в активности препарата еще не изучена.

Биомишени верапамила

Верапамил имеет очень значительное количество биологических мишеней, хотя информация об их участии в фармакологических эффектах препарата для большинства из них отсутствует (рис. 104). Считается, что основными биомишенями верапамила являются кальциевый канал Cav1.2 и калиевый канал hERG. Препарат имеет близкие значения аффинности к этим каналам (pK_i(Cav1.2) = 4.3-8.0 [496]; pK_i(hERG) = 6.0-6.8 [497]), которые соответствуют значению pC_{max} для самой низкой изучаемой дозы верапамила (40 мг) [498–501]. Кроме того, детально изучена физиологическая роль каналов Cav1.2 и hERG в действии верапамила.

Интересно отметить, что несмотря на то, что верапамил является одним из сильнейших блокаторов hERG, он не имеет проаритмических свойств, характерных для большинства hERG-блокаторов. В литературе отмечается, что отсутствие этого нежелательного эффекта как раз и связано с комбинированным действием верапамила на hERG и кальциевый канал. Вероятно, это обусловлено тем, что блокирование входящих токов может предотвратить EAD, которые запускают TdP. Мощная блокада кальциевого тока противодействует эффектам hERG-блокады на раннюю и позднюю реполяризацию [271, 496, 502].

Несмотря на ведущую роль каналов Ca1.2 и hERG в кардиопротекторных свойствах верапамила, существует биомишень, в отношении которой препарат обладает значительно более высокой активностью, σ1-рецептор (pK_i = 8.82) [503]. К сожалению, в литературе отсутствуют сведения об участии σ1-рецептора в биологических эффектах препарата, хотя известно, что этот белок-шаперон в значительной степени участвует в кардиопротекции.

Среди наиболее значимых биомишеней верапамила, значения Ki которых находятся в пределах плазменных концентраций терапевтических доз препарата (pC_{max} = 6.2-7.2), следует отметить следующие: Cav1.1 канал (pK_i = 7.2) [504], α2A-АР (pK_i = 6.7) [505], 5-HT_2-рецепторы (pK_i = 6.8-7.0) [506], SERT (pK_i = 6.9) и D_3-рецептор (pK_i = 7.2) [507]. Вероятно, из-за своего сродства к 5-НТ-рецепторам верапамил ингибировал 5-НТ-индуцированную агрегацию тромбоцитов в гораздо более низких концентрациях, чем это требуется для ингибирования агрегации, индуцированной другими агрегирующими агентами [508]. При несколько более высоких концентрациях по сравнению с интервалом pC_{max} верапамил ингибирует некоторые подтипы α1-АР (pK_i(α1A) = 6.07; pK_i(α1B) = 6.03; pK_i(α1D) = 5.42). Предполагается, что клинически наблюдаемая гипотензия после применения верапамила может быть объяснена его ингибирующим действием на α1-АР человека [509].

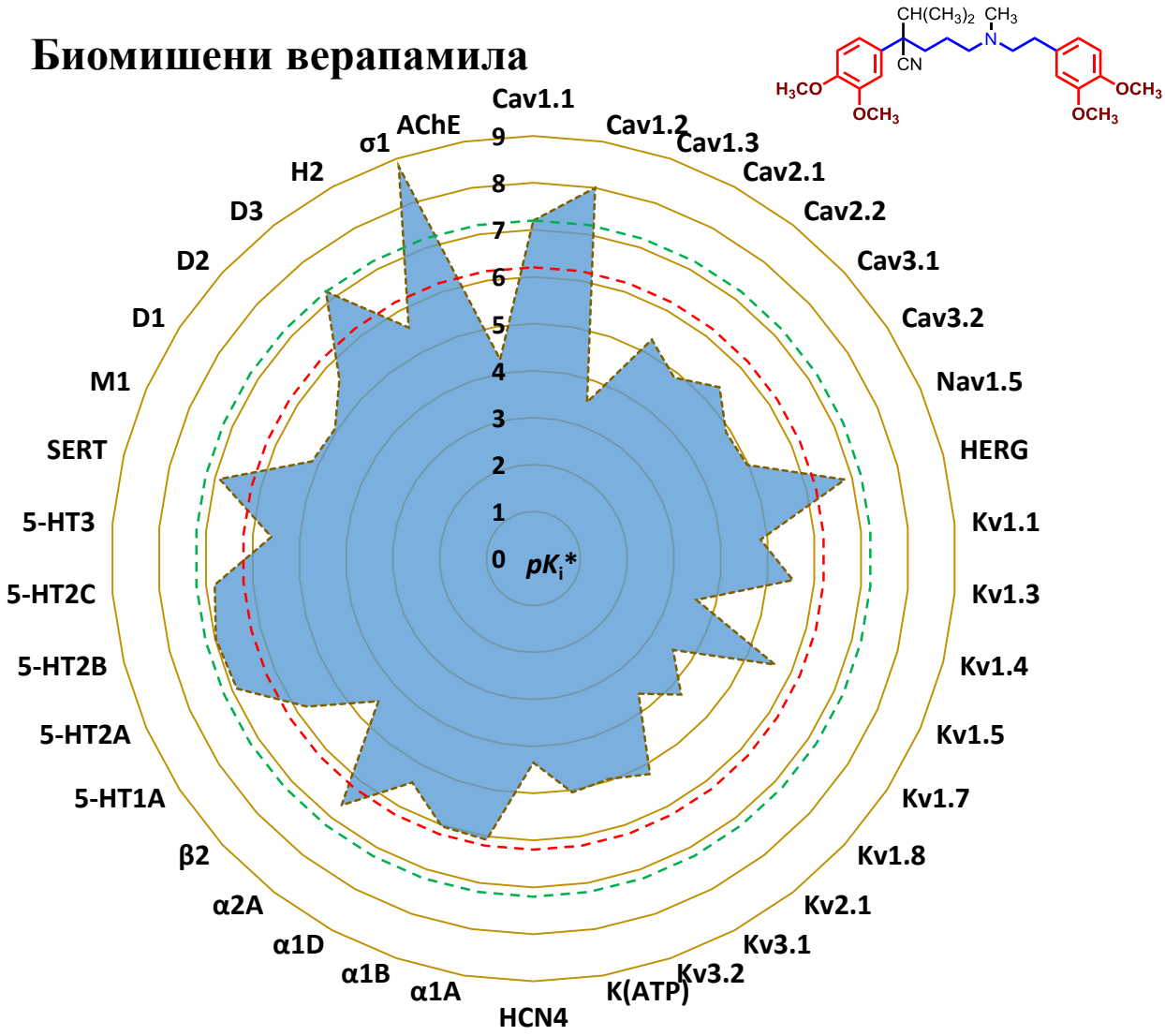


Рисунок 104. Диаграмма биомишеней верапамила. Обозначения аналогичны указанным на рисунке 100.

Помимо каналов Cav1.2 и Cav1.1, к которым верапамил проявляет наибольшее сродство, в группе кальциевых каналов препарат также обладает сродством к ряду других их подтипов (pK_i(Cav1.3) = 3.52; pK_i(Cav2.1) = 5.3; pK_i(Cav2.2) = 4.9; pK_i(Cav3.1) = 5.4; pK_i(Cav3.2) = 4.9) [510–513]. Хотя значения констант ингибирования для перечисленных каналов уже ниже плазменных концентраций препарата, предполагается, что они могут быть вовлечены в его физиологические эффекты.

Также в достаточно высоких концентрациях (pK_i = 3.7-5.6), верапамил блокирует целый ряд различных калиевых каналов, включая Kv1.1, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.5, Kv1.7, Kv1.8, Kv2.1, Kv3.1, Kv3.2 и K_{ATP} [514–517]. Блокирующий эффект верапамила на канал Kv1.5 (pK_i = 5.6) [514], по-видимому, способствует, по крайней мере частично, пролонгированию предсердной ERP и результирующему антиаритмическому действию на ФП у людей.

Верапамил блокирует канал Nav1.5 с pK_i = 4.97 [518], что примерно на порядок ниже минимального pC_{max}. Предполагается, что блокирование Nav1.5 верапамилом вместе с блокированием Cav1.2 участвует в предотвращении клинического риска TdP, связанного с его потенциалом блокирования hERG.

Установлено, что верапамил способен связываться с каналом HCN4 (pIC_{50} = 4.4) [519]. Таким образом, сродство верапамила к этой биомишени лишь на порядок выше, чем у ивабрадина (pIC_{50} = 5.6). Принимая во внимание тот факт, что значения pCmax для максимальных доз этих препаратов также различаются почти на порядок (6,9 для ивабрадина против 6,2 для верапамила), можно предположить участие каналов HCN4 и в антиаритмических эффектах верапамила.

Наконец, мишенями верапамила также являются M_1-рецептор ($pK_i(M_1)$ = 5.2), D_1- и D_2-рецепторы ($pK_i(D_1)$ = 5.1; $pK_i(D_2)$ = 5.6), H_2-рецептор ($pK_i(H_2)$ = 5.6), 5-HT_{1A}- и 5-HT_3-рецепторы (pK_i(5-HT_{1A}) = 5.5; pK_i(5-HT_3) = 5.6) и ацетилхолинэстераза (pK_i(AChE) = 4.3) [507, 520–522].

Вывод по мультитаргетингу препаратов со структурой БСЛ

Фармакофор БСЛ-структуры можно рассматривать как базовый для кардиопротекторных средств с различным механизмом действия. Более того, многие соединения, соответствующие этому фармакофору, обладают сродством к большому спектру биологических мишеней, характерных для других типов лекарственных средств, таких как нейропсихотропные средства. Среди биомишеней БСЛ известны следующие: HCN-каналы (HCN1-HCN4); натриевые каналы (Nav1.1-Nav1.8); калиевые каналы (Kv1.3-Kv1.8; Kv2.1; Kv3.1; Kv4.3; Kv7.1; Kv10.1; Kv11.1; Kir2.1; Kir2.3; K_{ATP}; K2P3.1); кальциевые каналы (Cav1.1-Cav1.3; Cav2.1, Cav2.2; Cav3.1, Cav3.2; RyR2); α-АР (α1A-α1D; α2A- α2C); β-АР (β1- β3); серотониновые рецепторы (5-HT_1 – 5-HT_7); серотониновый транспортер (SERT); мускариновые рецепторы (M_1-M_3); дофаминовые рецепторы (D_1-D_3); гистаминовые рецепторы (H_1, H_2); σ_1-рецепторы.

Таким образом, подавляющее большинство биароматических кардиопротекторов обладают мультитаргетным механизмом действия, что полностью соответствует современным представлениям о том, что эффективные и безопасные кардиопротекторы должны быть мультитаргетными. Примеры карведилола, ивабрадина, небиволола, ранолазина и верапамила ярко показывают политаргетное действие препаратов биароматической структуры. Кроме того, эти данные являются подтверждением единой общей гипотезы о том, что все препараты имеют комплексный механизм действия, а монотаргетных препаратов не существует.

2.3.2. Дизайн новых соединений с БСЛ-структурой с потенциальными кардиопротекторными свойствами

Обзор литературы по соединениям с кардиопротекторными свойствами, представленный в разделе 1.4 настоящей работы, и выдвинутая на его основе гипотеза об универсальности биароматического фармакофора в кардиопротекции, явились базисом для инициированной нами программы по поиску новых потенциальных кардиопротекторных средств в ряду веществ с БСЛ-структурой.

Ключевыми тезисами, послужившими основанием этой программы, явились следующие:

1. Соединения с БСЛ-структурой имеются в большинстве известных классов кардиопротекторных средств, таких как: блокаторы HCN-каналов, блокаторы Na^+-каналов, K^+-каналов, β-адреноблокаторы, блокаторы Ca^{2+} каналов и многих других. Их объединяет единая обобщенная фармакофорная модель, в которой два ароматических ядра связаны линкером длиной в среднем 7-10 связей, который содержит не менее одного гетероатома.
2. Для кардиопротекторов с БСЛ-структурой, изучавшихся более детально, установлен мультитаргетный механизм действия. В частности, для ряда известных препаратов с указанной структурой, выявлено более десяти биомишеней.
3. Мультитаргетность БСЛ-кардиопротекторов является одним из залогов их успешности, что согласуется с современной концепцией эффективности кардиопротекторов. Именно комплексный механизм действия лекарственных средств с определенным сочетанием спектра этих механизмов обеспечивает их эффективность и безопасность.

Таким образом нами было постулировано, что БСЛ-фармакофор является универсальной платформой для конструирования на этой основе кардиопротекторных средств с различными, в том числе, комплексными механизмами. Варьируя строение БСЛ с учетом фармакофорных моделей определенных подклассов кардиопротекторных средств, можно создавать активные соединения с заданным спектром действия.

С учетом выдвинутых положений с целью поиска новых соединений с потенциальными кардиопротекторными свойствами нами была выработана следующая стратегия:

1. Сбор библиотек каждого подкласса соединений с БСЛ-структурой и построение их расчетных фармакофорных моделей с целью более точно учета

фармакофорных элементов, ответственных за заданный механизм, и их расположение в пространстве.

2. Дизайн новых групп молекул с БСЛ-структурами, отвечающих фармакофорным моделям БСЛ-кардиопротекторов различных подклассов.
3. Синтез сконструированных соединений.
4. *In vivo* скрининг полученных веществ в серии животных моделей. Выявление наиболее активных соединений. Отбор лидера.
5. Расширенные исследования соединения-лидера и анализ спектра его механизмов действия. Дальнейшая доклиническая разработка лидера.

2.3.2.1. Построение фармакофорных моделей кардиопротекторов с различными механизмами действия

В процессе анализа литературных данных, частично представленных в разделе 1.4 литературного обзора, а также более подробно в обзорах автора [313, 437–440], был осуществлен сбор баз данных биароматических кардиопротекторов, для которых были экспериментально определены характеристики их связывания с соответствующими биологическими мишенями. Также для формирования этих библиотек использовались лигандные базы данных ChEMBL (https://www.ebi.ac.uk/chembl/), BindingDB (https://www.bindingdb.org/), ZINC (https://zinc.docking.org/). При этом отбирались лиганды, обладающие высокими значениями аффинности к следующим биомишеням: кальциевым каналам L-типа (Cav1.2), натриевым каналам Nav1.5, калиевым hERG-каналам и Kv1.5-каналам, HCN-каналам, β1-АР, рианодиновым RyR2-рецепторам, σ1-рецепторам. В библиотеках биароматических соединений для указанных мишеней было собрано до 200 соединений с доказанными характеристиками связывания. На основании этих библиотек с использованием программы Phase Schrödinger были определены наиболее вероятные фармакофорные гипотезы строения биароматических лигандов отобранного набора биомишеней. При этом в расчете было задано условие по минимальной степени соответствия активных лигандов биомишеней результирующей фармакофорной модели в 30%. В качестве примеров на рисунках 105-112 (части А рисунков) приведены по 8 представителей биароматических лигандов выбранных для анализа биомишеней с указанием их характеристик связывания (величины полумаксимального ингибирования IC_{50}). На частях Б рисунков 105-112 приведены наложения небольших частей выборок биароматических лигандов (около 10 соединений) соответствующих биомишеней в конформациях, соответствующих их расчетным фармакофорным моделям, приведенным на заднем плане, а на частях В рисунков – финальные фармакофорные модели с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

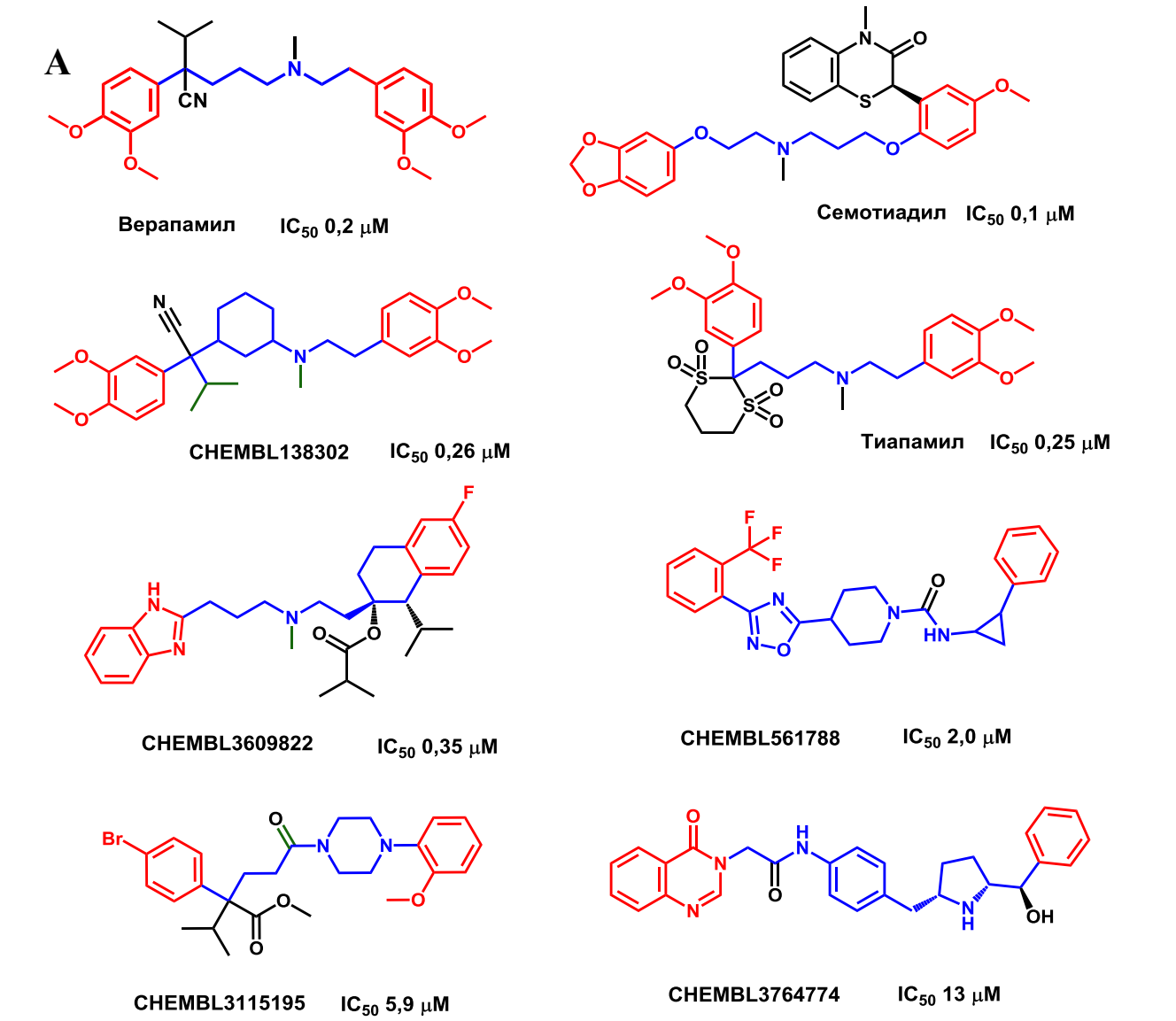


Рисунок 105. А. Представители биароматических блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов (L-типа). Б. Наложение части выборки блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

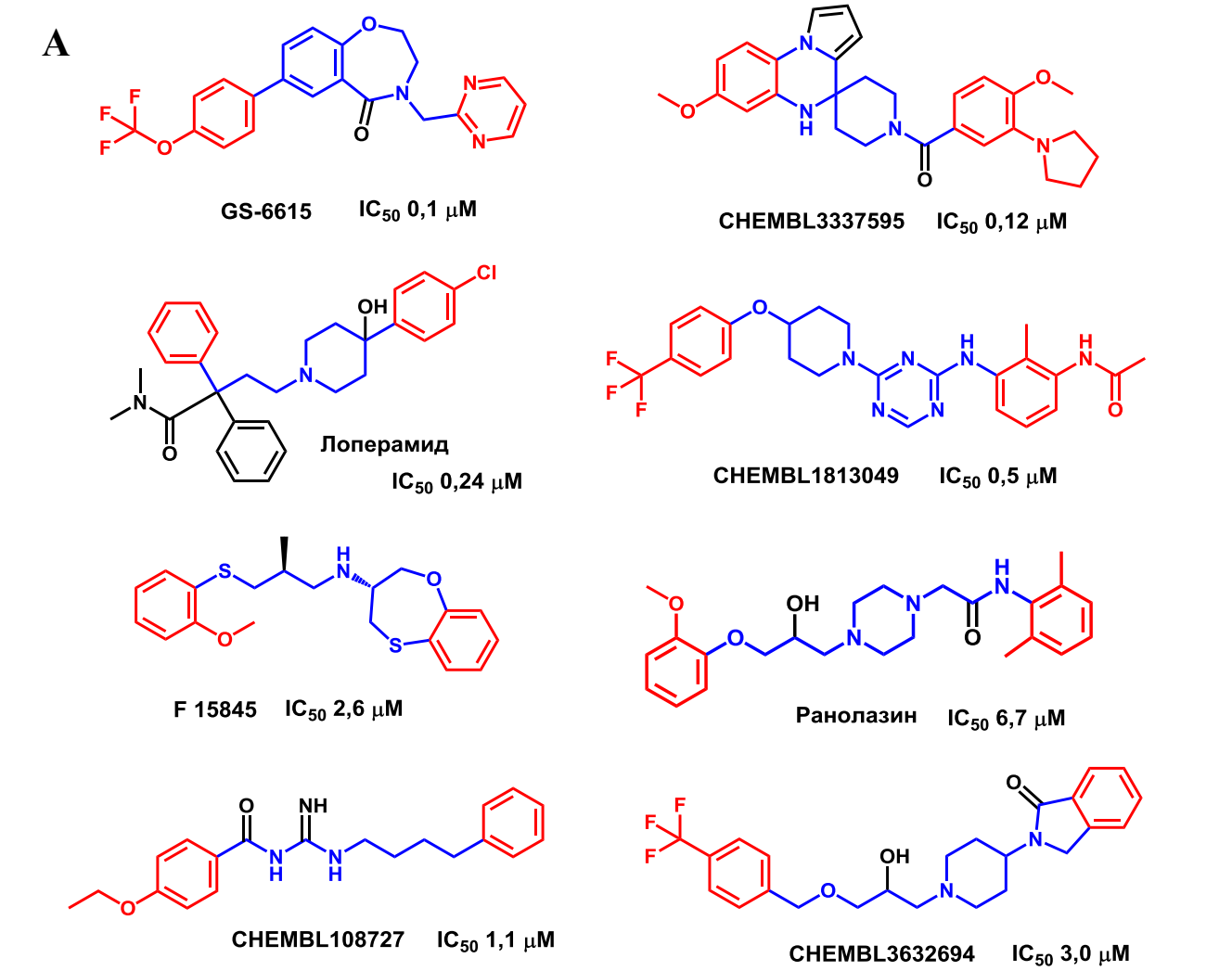
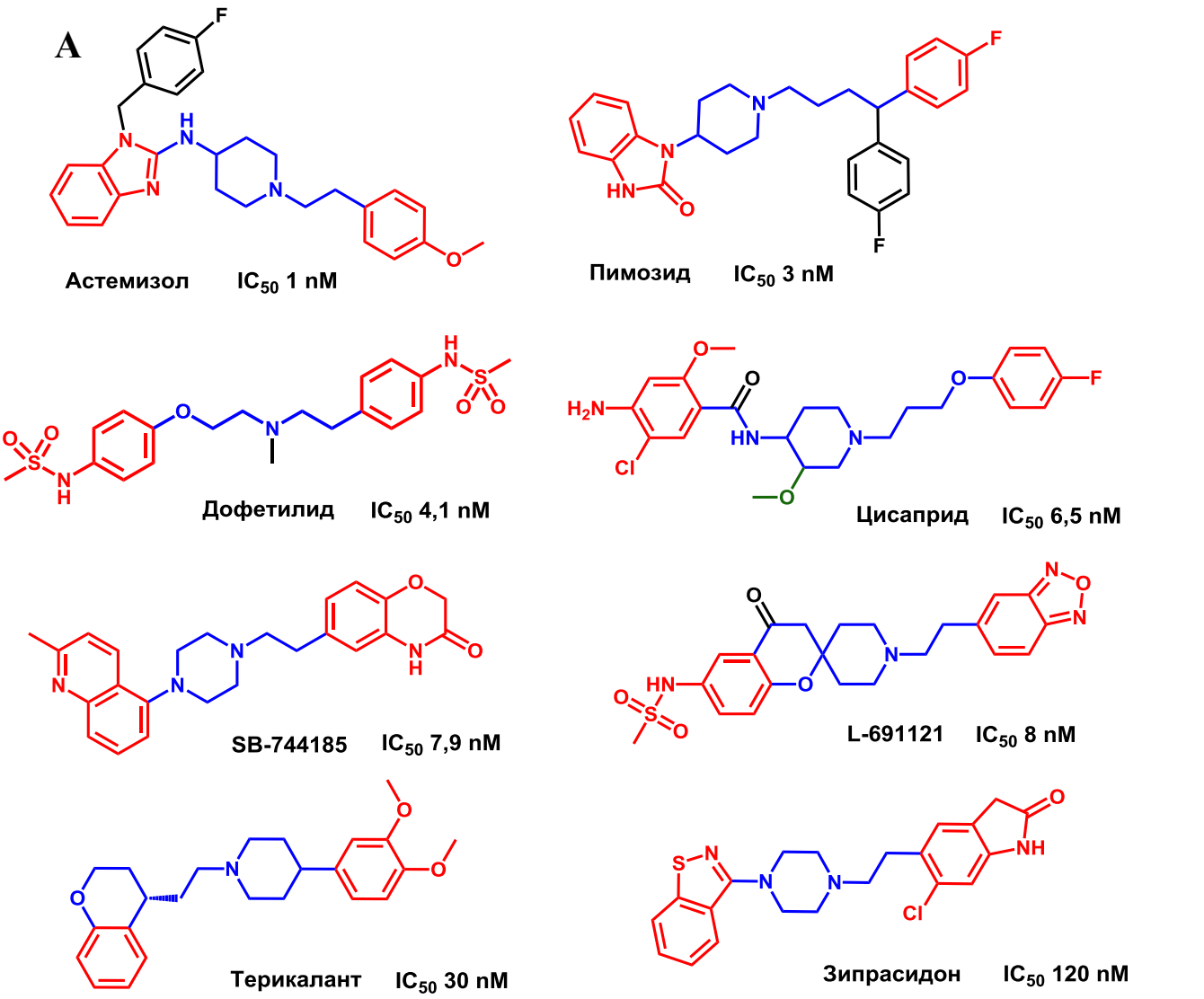


Рисунок 106. А. Представители биароматических блокаторов натриевых Nav1.5-каналов. Б. Наложение части выборки блокаторов натриевых Nav1.5-каналов в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель блокаторов натриевых Nav1.5-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).



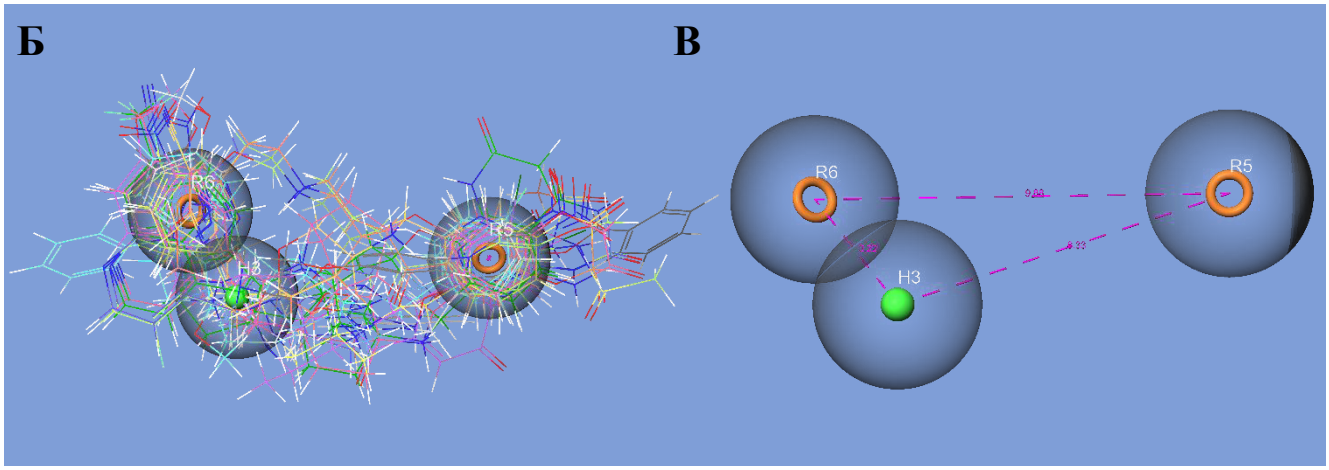


Рисунок 107. А. Представители биароматических блокаторов калиевых hERG-каналов (Kv11.1). Б. Наложение части выборки блокаторов калиевых hERG-каналов в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель блокаторов калиевых hERG-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

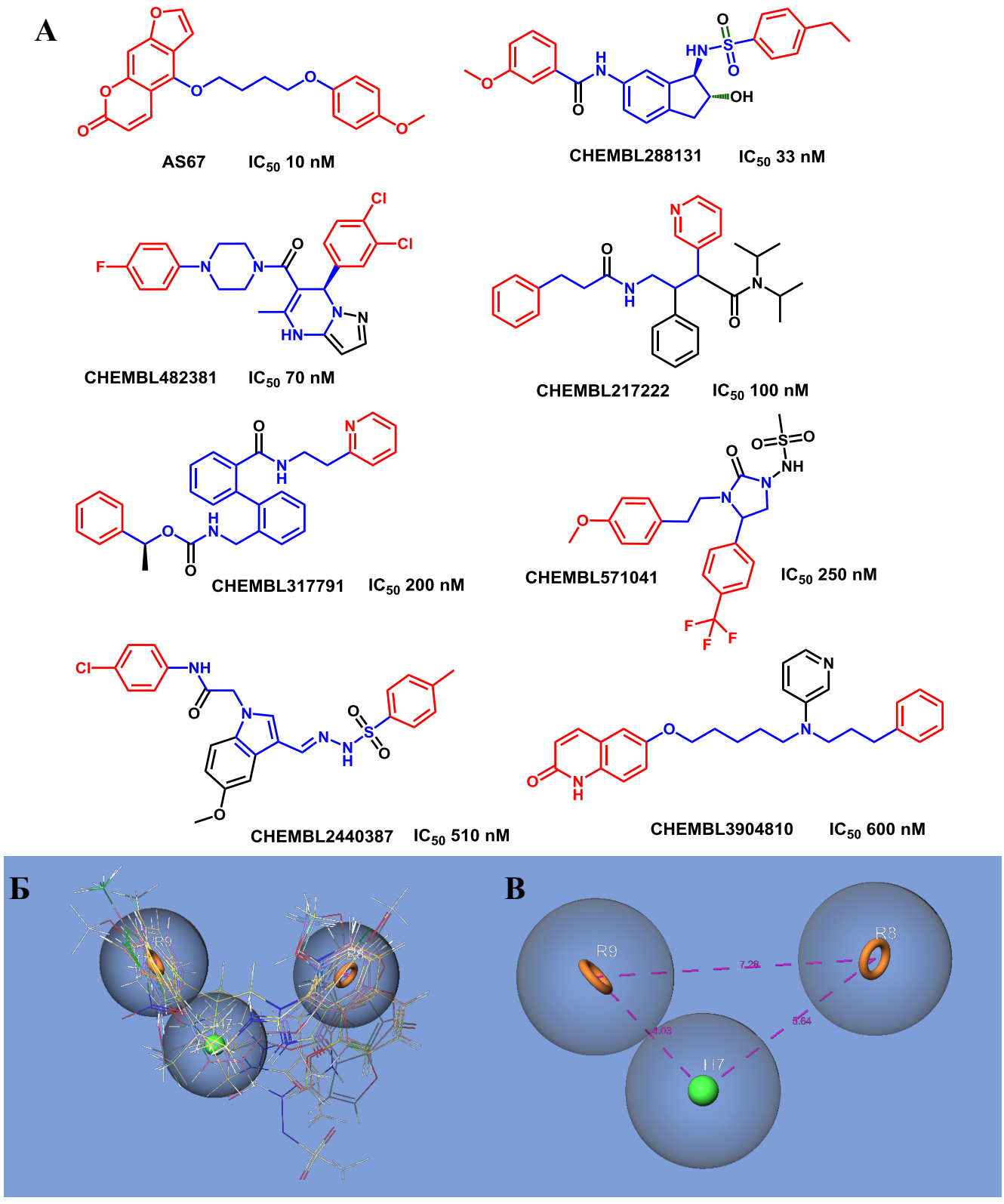


Рисунок 108. А. Представители биароматических блокаторов калиевых Kv1.5-каналов. Б. Наложение части выборки блокаторов калиевых Kv1.5-каналов в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель блокаторов калиевых Kv1.5-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

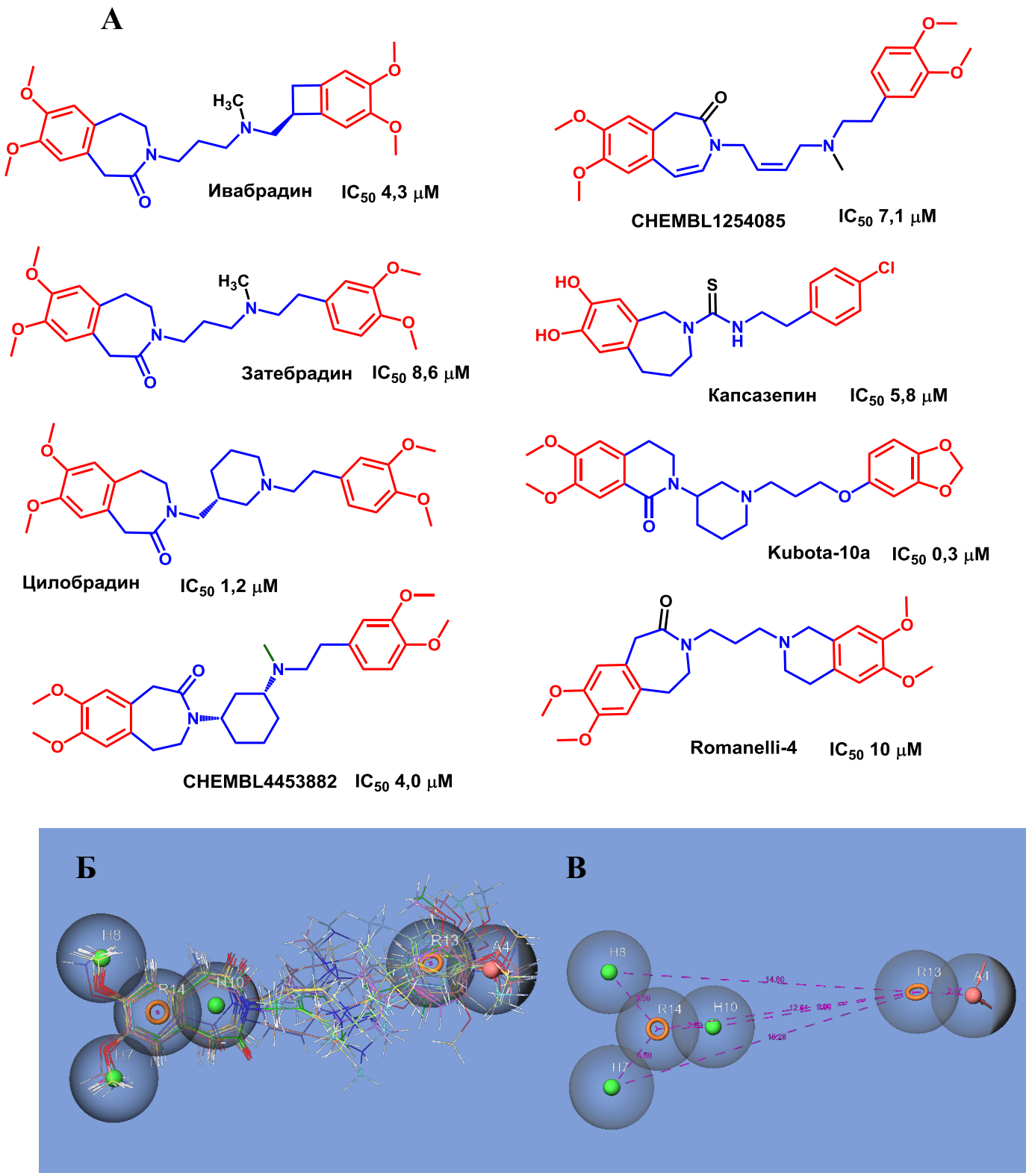
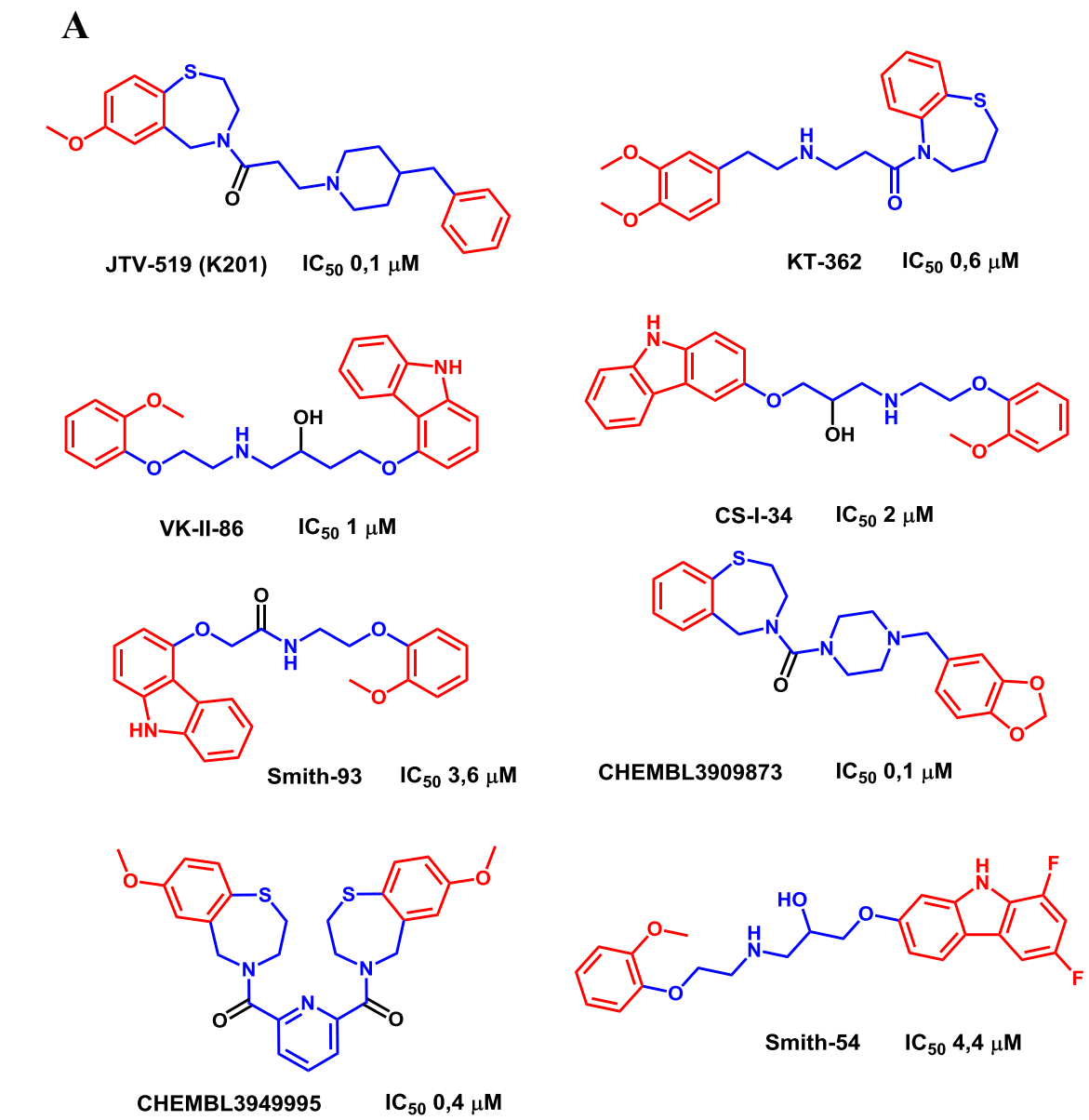


Рисунок 109. А. Представители биароматических блокаторов HCN-каналов. Б. Наложение части выборки блокаторов HCN-каналов в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель блокаторов HCN-каналов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).



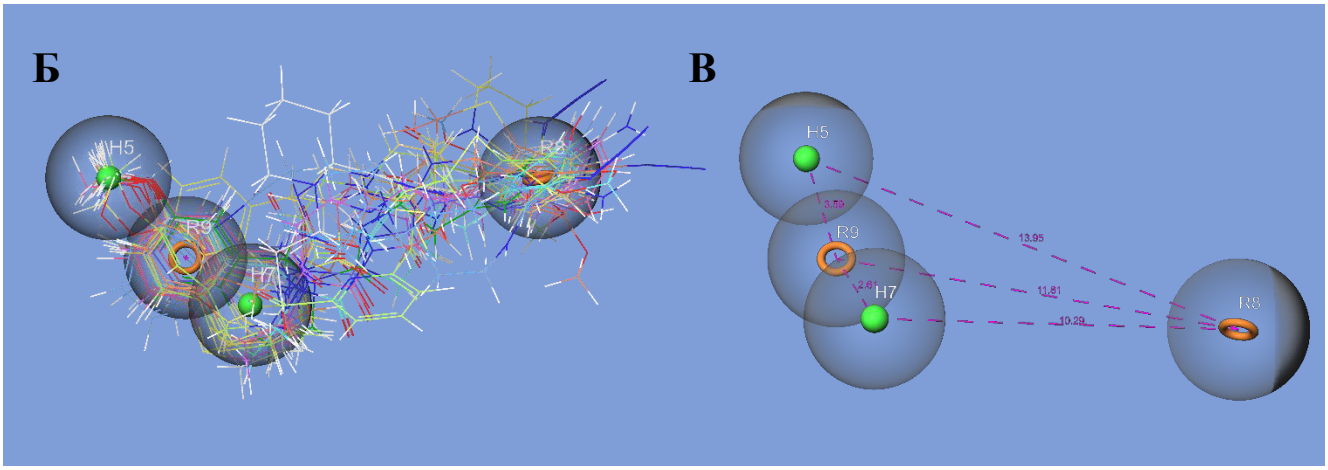


Рисунок 110. А. Представители биароматических ингибиторов рианодиновых RyR2-рецепторов. Б. Наложение части выборки ингибиторов RyR2-рецепторов в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель ингибиторов RyR2-рецепторов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

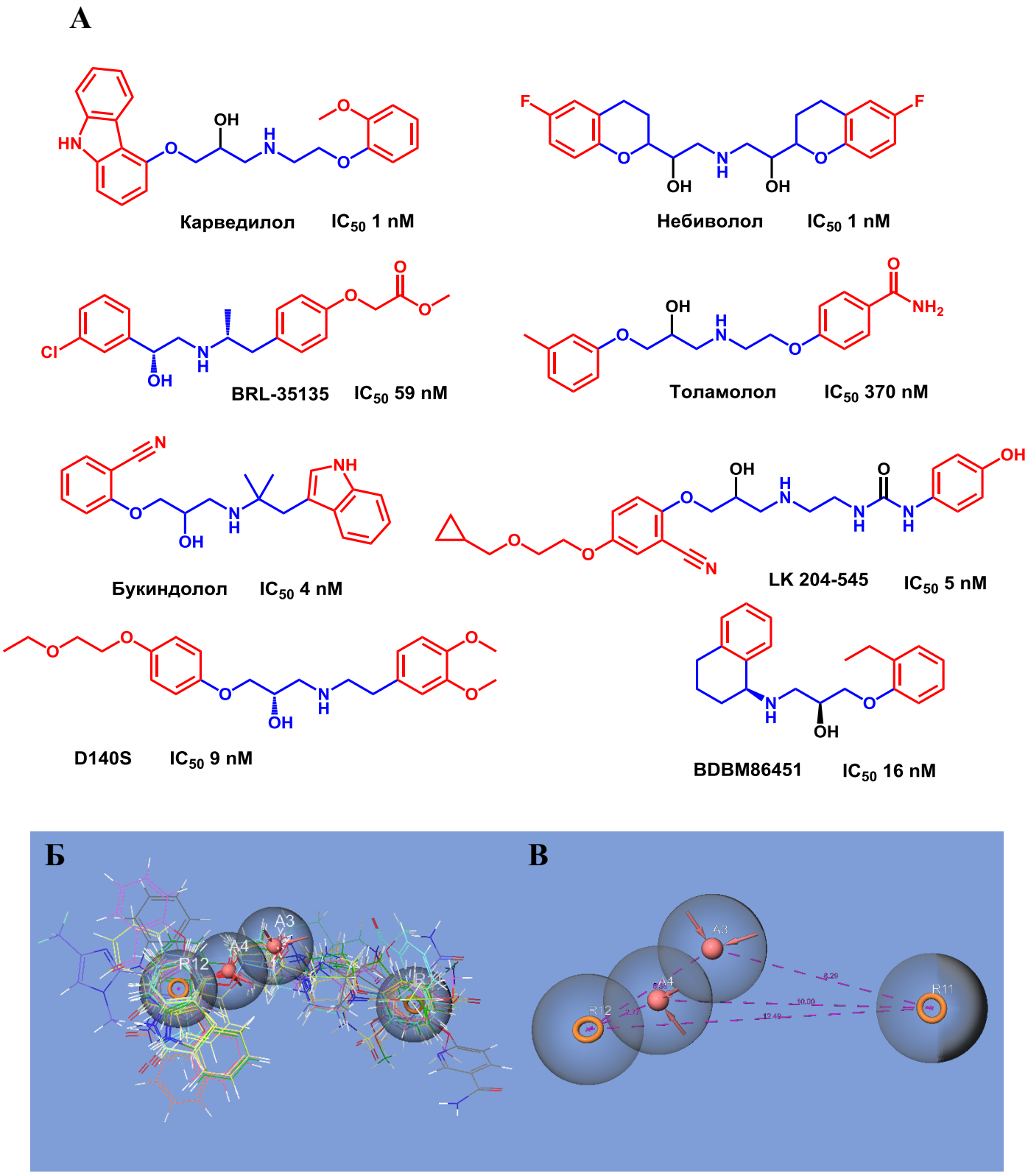


Рисунок 111. А. Представители биароматических β1-адреноблокаторов. Б. Наложение части выборки β1-адреноблокаторов в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель β1-адреноблокаторов с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

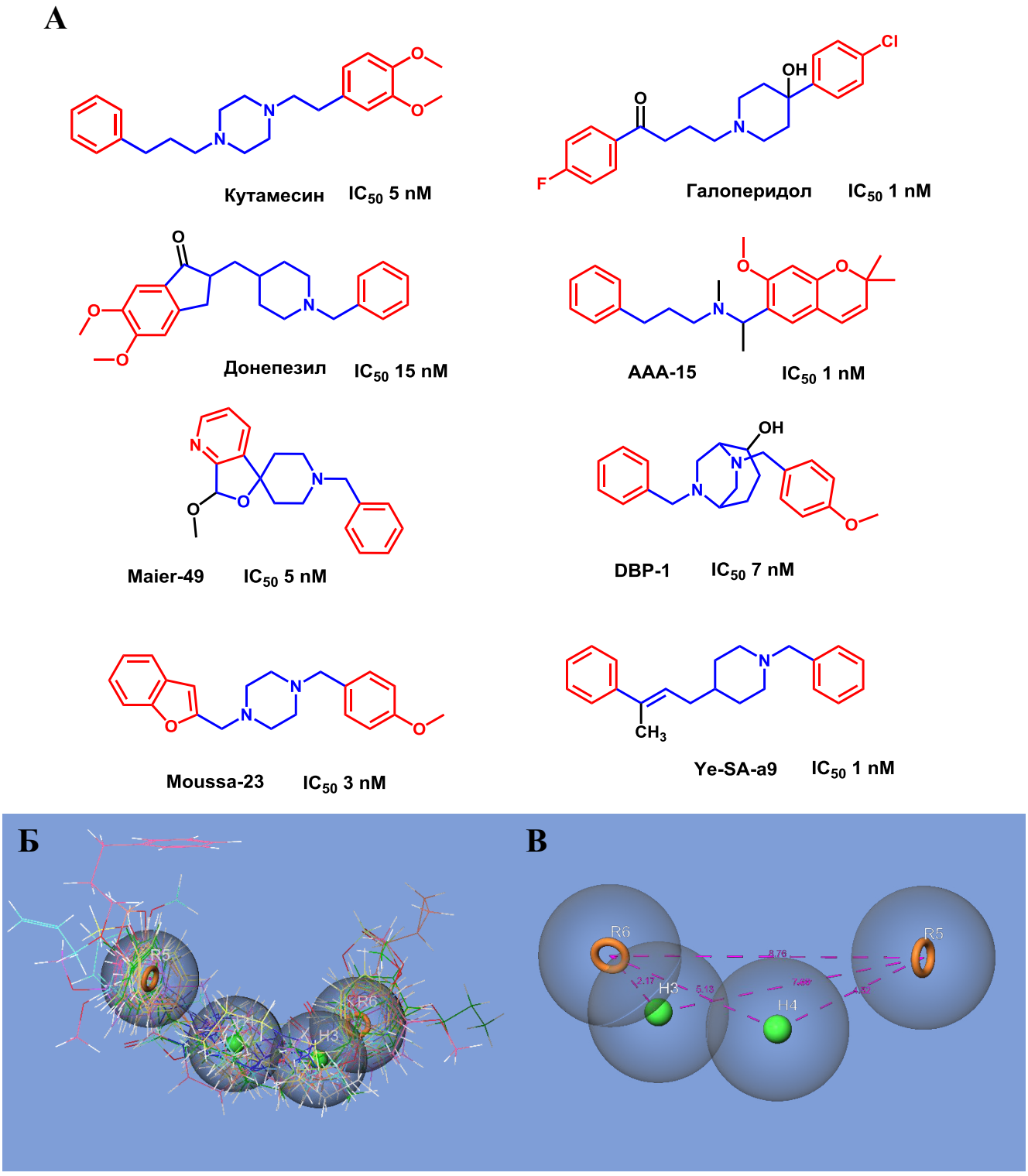


Рисунок 112. А. Представители биароматических лигандов σ1-рецептора. Б. Наложение части выборки лигандов σ1-рецептора в конформациях, соответствующих их расчетной фармакофорной модели, приведенной на заднем плане. В. Фармакофорная модель лигандов σ1-рецептора с указанием расстояний между фармакофорами (в Å).

Во всех рассчитанных фармакофорных моделях присутствует два ароматических фармакофора (оранжевые кольца) с различными расстояниями между ними. Также в большинстве моделей присутствует гидрофобный фармакофор (зеленая сфера), расположенный между ароматическими группами. В модели блокаторов кальциевых Cav1.2-каналов расстояние между ароматическими фармакофорами составляет 10.17 Å. Также в ней присутствует гидрофобная группа H7, удаленная на 2.5 и 9.34 Å от арильных групп. В модели блокаторов натриевых Nav1.5-каналов расстояние между ароматическими фармакофорами существенно меньше, и составляет 6.42 Å. Гидрофобная группа H7 удалена от них на 3.65 и 7.61 Å. Сходная модель с теми же элементами фиксируется и для блокаторов hERG-каналов. Арильные кольца расположены на расстоянии 9.88 Å друг от друга, а гидрофобный фармакофор – на расстоянии 3.22 и 8.33 от ароматических групп. Модель блокаторов Kv1.5-каналов достаточно сходна с моделью Nav1.5-блокаторов. В ней расстояние между ароматическими фармакофорами составляет 7.28 Å, а между гидрофобным элементом и кольцами – 4.03 и 5.64 Å. В модели блокаторов HCN-каналов помимо ароматических ядер, расположенных на удалении 12.64 Å друг от друга, имеются три гидрофобных фармакофора, расположенных вокруг одного из колец на удалении 2.69-3.59 Å, а также акцептор водородной связи возле второго арильного кольца на расстоянии 2.77 Å. Модель ингибиторов RyR2-рецептора содержит ароматические фармакофоры с расстоянием 11.81 Å между ними и два гидрофобных элемента вблизи первого кольца на удалении 2.61 и 3.59 Å. В фармакофорной модели бета1-адреноблокаторов помимо двух ароматических ядер, расстояние между которыми составляет 12.49 Å присутствуют два акцептора водородных связей (розовые сферы), удаленных на 2.77 и 5.36 Å от одного из арилов. Наконец, модель лигандов σ1-рецептора, содержит ароматические ядра на расстоянии 8.76 Å друг от друга, и два гидрофобных фрагмента между ними на расстоянии 2.17 и 5.13 Å (H3) и 5.13 и 4.52 Å (H4) от колец.

2.3.2.2. Дизайн новых групп потенциальных кардиопротекторов в группе БСЛ

На основании структурной информации о биароматических кардиопротекторах и выявленных фармакофорных моделей нами были сконструированы несколько групп биароматических соединений, представленных на рисунке 113 [523–533]. Во всех этих соединениях имелось две ароматические группы, в которых в качестве заместителей R^1-R^{10} в различных вариациях использовались алкокси-группы (прежде всего, метокси-группы) или гидроксильные группы. Для наглядности здесь и далее ароматические части молекул выделены красным, в соответствии с ранее использовавшейся гаммой. В качестве линкера (выделен синим), связывающего ароматические фрагменты, использовались азаалкановые цепочки либо линейного строения (**2.3.1** и **2.3.2**), либо содержащие

циклический фрагмент (**2.3.3** и **2.3.4**). Во всех случаях в линкере имелось либо два, либо три атома азота. Длина линкера для линейных соединений достаточно широко варьировалась и составляла от 8 до 12 связей. Использовались также линкеры, содержащие помимо атомов азота другие гетероатомы (X = O, S). В качестве циклического фрагмента в линкере использовалось либо пиперазиновое кольцо (**2.3.3**), либо пиперазин-2,3-дионовое (**2.3.4**).

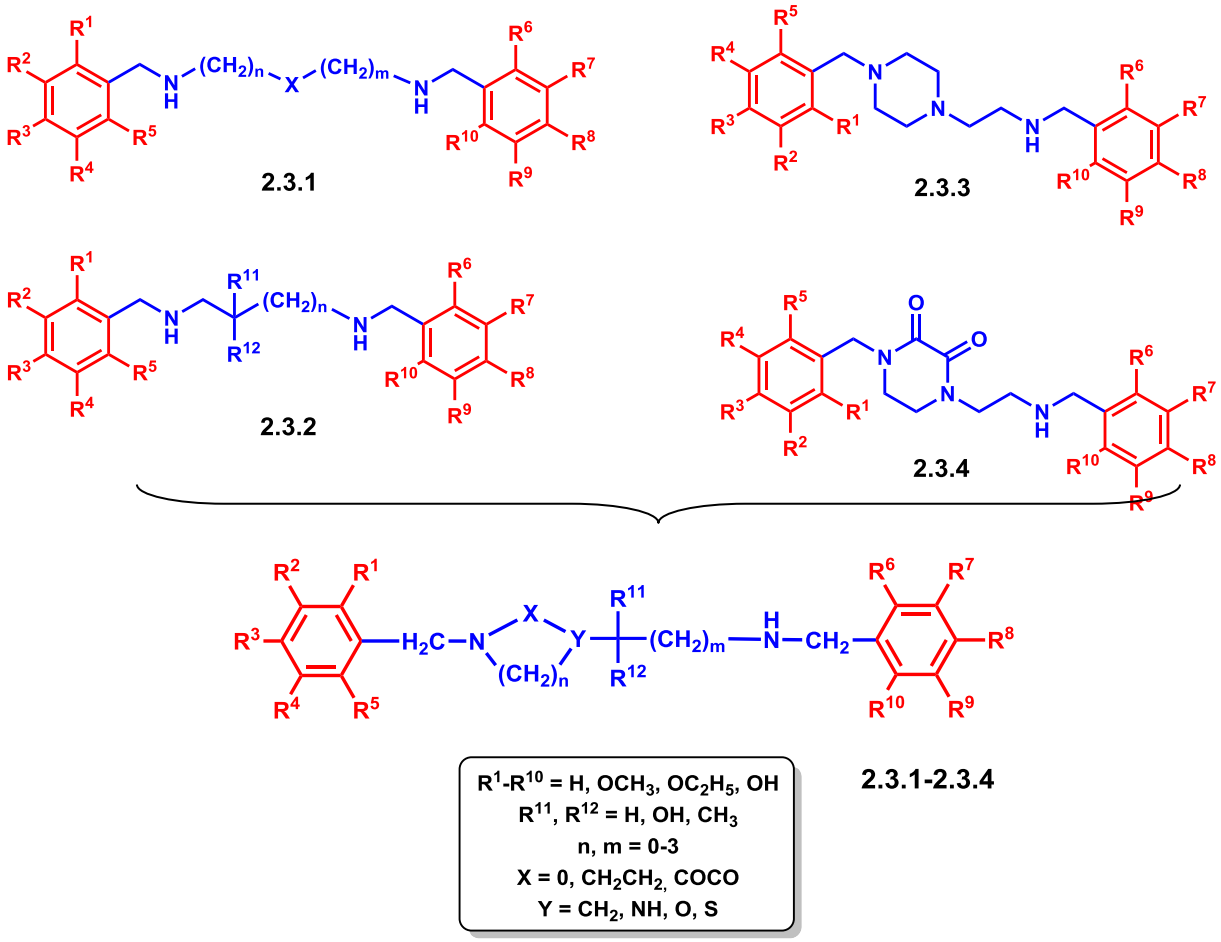


Рисунок 113. Сконструированные биароматические азаалканы

Для соединений сконструированных групп был проведен анализ их соответствия расчетным фармакофорным моделям биароматических лигандов кальциевых каналов L-типа (Cav1.2), натриевых каналов Nav1.5, калиевых hERG-каналов и Kv1.5-каналов, HCN-каналов, β1-AP, рианодиновых RyR2-рецепторов и σ1-рецепторов. Такой скрининг проводился с использованием программы Phase Screen, которая ранжировала молекулы по их степени соответствия фармакофорной гипотезе. Для оценки степени соответствия молекулы моделям использовалась специальная функция PhaseScore, которая комбинирует в себе меры сходства по форме, фармакофорным компонентам и общей энергии анализируемых конформаций.

Таблица 27. Результаты расчетов степени соответствия соединений сконструированных групп **2.3.1-2.3.4** фармакофорным моделям биароматических лигандов кардиопротекторных биомишеней (по показателю PhaseScore)

Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7	R^8	R^9	R^{10}	R^{11}	R^{12}	n	m	X	Y	a	Cav1.2	Nav1.5	hERG	Kv1.5	HCN	RyR2	Beta1	Sigma1	Среднее
АЛМ-802	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	60.0	68.5	73.7	59.4	54.1	51.2	55.2	52.0	57.6
АЛМ-803	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	2	1	-	N	3	59.4	66.6	70.8	74.3	54.1	56.3	60.5	51.6	58.9
АЛМ-805	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	3	2	-	N	3	60.3	63.8	67.4	69.8	46.3	50.1	59.6	58.8	56.6
АЛМ-806	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	3	2	-	N	3	56.7	73.0	65.0	75.2	45.6	52.7	54.5	53.3	57.7
АЛМ-807	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	3	2	-	N	3	59.2	70.3	68.5	62.6	56.5	36.9	53.6	46.6	53.8
АЛМ-811	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	2	-	N	3	58.3	71.2	68.5	64.8	52.0	56.5	57.1	52.0	59.4
АЛМ-812	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	3	2	-	N	3	61.8	70.4	63.5	59.6	53.1	46.8	57.9	52.3	57.4
АЛМ-819	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	57.7	70.9	65.7	65.3	51.8	58.7	64.4	51.9	60.6
АЛМ-820	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	61.4	69.7	66.7	69.7	50.3	54.0	56.5	57.7	59.2
АЛМ-821	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	H	H	2	1	-	N	3	60.7	70.1	67.4	69.8	48.3	60.3	57.1	56.2	60.4
АЛМ-822	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	H	3	2	-	N	3	58.6	67.0	64.1	60.5	49.1	42.2	61.8	50.4	54.8
АЛМ-824	OC_2H_5	H	H	H	H	OC_2H_5	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	57.9	65.2	65.4	61.6	51.4	62.6	60.3	62.0	60.9
АЛМ-830	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	2	1	-	N	3	54.4	66.1	77.5	65.3	52.9	63.9	56.9	49.7	59.2
АЛМ-831	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	2	1	-	N	3	62.9	69.3	69.6	68.0	57.9	60.9	61.1	53.2	61.9
АЛМ-832	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	56.3	61.4	60.7	59.0	53.5	57.5	58.3	53.1	57.4
АЛМ-833	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	62.0	67.9	63.0	66.6	57.7	55.0	47.6	54.3	58.4
АЛМ-835	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	57.3	62.9	70.5	46.8	57.4	38.8	45.5	51.6	51.9
АЛМ-836	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	56.4	60.5	67.6	74.3	60.8	51.2	55.4	50.3	55.8
АЛМ-838	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	61.0	67.4	65.9	68.8	60.7	42.9	58.4	47.8	56.1
АЛМ-839	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	60.4	70.8	69.4	67.4	59.2	54.4	59.9	48.5	59.8
АЛМ-840	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	60.5	66.7	66.0	67.9	55.3	57.3	55.2	53.5	59.1
АЛМ-841	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	57.0	71.3	68.4	61.9	53.9	58.7	63.2	43.6	59.7
АЛМ-842	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	61.4	65.6	68.1	64.9	54.0	49.2	59.9	53.2	57.3
АЛМ-843	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	52.4	67.2	66.6	66.4	65.3	43.3	62.2	54.1	56.9
АЛМ-844	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	CH	2	54.1	65.3	67.4	64.5	55.6	44.9	54.1	60.6	55.6
АЛМ-845	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	2	-	CH	2	59.4	66.9	70.4	64.7	53.5	58.4	59.0	58.6	60.2
АЛМ-847	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	1	1	-	CH	2	59.6	65.6	64.0	70.6	41.4	52.9	56.4	50.2	55.6
АЛМ-850	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OH	H	0	1	-	CH	2	59.5	63.6	66.6	63.8	49.5	52.9	35.1	46.5	52.9
АЛМ-851	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	0	1	-	CH	2	59.0	68.8	71.2	63.5	47.6	50.3	57.2	47.7	56.2
АЛМ-861	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	CH_3	CH_3	0	1	-	CH	2	56.5	71.1	67.1	62.8	52.0	50.4	56.6	50.5	57.3
АЛМ-863	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	O	2	62.9	73.2	67.1	59.3	44.2	48.1	27.5	53.2	53.8
АЛМ-864	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	61.8	62.3	68.0	59.7	38.5	50.3	57.9	42.4	53.3
АЛМ-865	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	0	1	-	CH	2	60.8	68.5	67.2	63.2	55.3	50.5	61.2	44.2	57.4
АЛМ-866	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	0	1	-	CH	2	60.7	65.5	73.1	67.0	47.1	56.9	55.9	44.1	56.6
АЛМ-867	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	S	2	59.4	69.1	68.3	71.0	48.5	56.1	48.5	47.7	56.8
АЛМ-868	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OH	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	56.7	75.3	69.8	60.6	57.7	60.8	57.1	47.3	61.4
АЛМ-869	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OH	H	H	H	H	2	1	-	N	3	57.3	70.1	73.0	61.8	53.5	55.3	58.5	51.7	59.0
АЛМ-870	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OH	OCH_3	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	60.8	73.0	70.9	71.3	44.9	50.6	63.4	52.0	58.6
АЛМ-871	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	61.8	71.2	72.7	63.9	46.9	55.1	62.0	56.3	59.9
АЛМ-872	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	57.4	69.7	72.1	61.3	52.1	62.5	58.3	52.5	60.6
АЛМ-873	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	61.8	75.0	70.5	74.4	52.9	48.8	58.7	49.4	58.8

В таблице 27 приведены результаты анализа процентов соответствия соединений сконструированных групп расчетным моделям по показателю PhaseScore. Степень соответствия в таблице обозначена цветовой шкалой: зеленым цветом отмечены лучшие значения соответствия, красным – худшие. Промежуточные значения обозначены желтым цветом. Установлено, что подавляющее большинство молекул имеет соответствие всем фармакофорным моделям более 50%. В среднем сконструированные молекулы соответствуют фармакофорным моделям биароматических лигандов выбранных кардиопротекторных биомишеней на 52-68%, что свидетельствует о высокой вероятности вовлеченности этих биомишеней в возможные кардиопротекторные эффекты новых соединений, а также подтверждает гипотезу о мультитаргетности веществ такого строения. Наибольшие значения степени соответствия фиксировались для моделей блокаторов Nav1.5-каналов (от 60.5 до 75.3%) и калиевых hERG-каналов (от 60.7 до 77.5%), далее следует модель блокаторов Cav1.2-каналов (от 52.4 до 62.9%), калиевых Kv1.5-каналов (от 46.8 до 75.2%) и лигандов σ1-рецепторов (от 42.4 до 62.0%). Несколько меньшая степень соответствия наблюдалась для моделей ингибиторов RyR2-рецепторов (от 36.9 до 63.9%), для блокаторов HCN4-каналов (от 38.5 до 65.3%) и β1-адреноблокаторов (от 27.5 до 64.4%).

В качестве примера визуализации соответствия сконструированных молекул расчетным фармакофорным моделям, на рисунке 114 приведены результаты наложения пространственной структуры соединения АЛМ-802 на эти модели. Во всех случаях, кроме модели биароматических ингибиторов β1-АР, ароматические кольца молекулы АЛМ-802 накладываются на сферы наиболее вероятного расположения ароматических групп лигандов соответствующих биомишеней. С остальными фармакофорными элементами моделей также наблюдается соответствие различных групп соединения АЛМ-802.

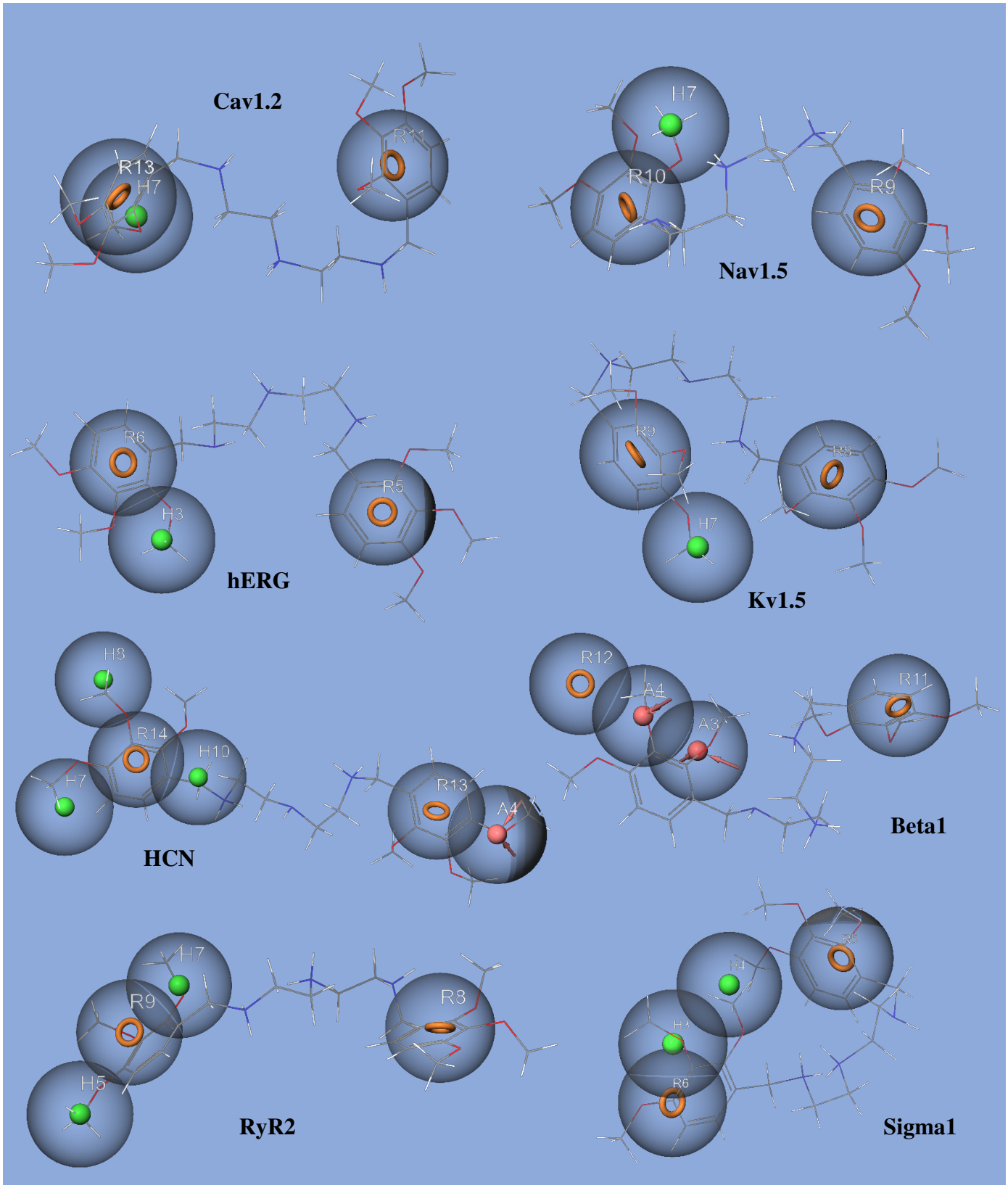
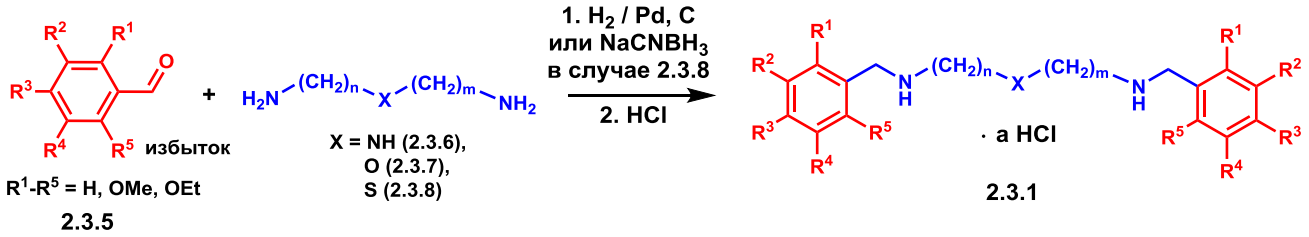


Рисунок 114. Наложение пространственной структуры соединения АЛМ-802 на фармакофорные модели биароматических лигандов кардиопротекторных биомишеней

2.3.3. Синтез биароматических азаалканов

Синтез линейных симметричных бис-арил-азаалканов **2.3.1** осуществлялся в соответствии со схемой 22 при взаимодействии избытка ароматических альдегидов **2.3.5** с диаминами или триаминами **2.3.6-2.3.8** в условиях восстановительного аминирования [523, 524, 527, 528, 534].



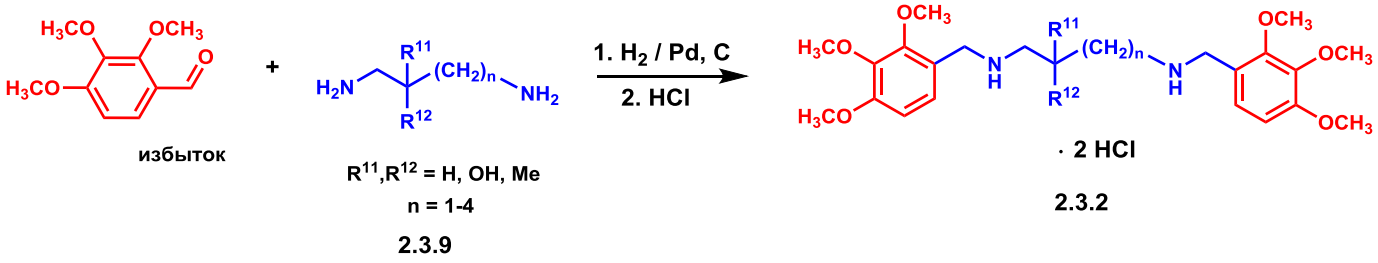
Соединения	Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	n	m	X	a	Выход, %
2.3.1a	АЛМ-802	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	2	2	N	3	61
2.3.1b	АЛМ-803	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	2	2	N	3	48
2.3.1c	АЛМ-805	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	3	3	N	3	54
2.3.1d	АЛМ-811	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	2	3	N	3	52
2.3.1e	АЛМ-812	OCH_3	H	OCH_3	H	H	3	3	N	3	52
2.3.1f	АЛМ-815	OCH_3	OCH_3	H	H	H	2	2	N	3	55
2.3.1g	АЛМ-819	OCH_3	H	H	H	H	2	2	N	3	54
2.3.1h	АЛМ-820	OCH_3	H	OCH_3	H	H	2	2	N	3	43
2.3.1i	АЛМ-821	OCH_3	H	H	OCH_3	H	2	2	N	3	70
2.3.1j	АЛМ-822	OCH_3	OCH_3	H	H	H	3	3	N	3	56
2.3.1k	АЛМ-824	OC_2H_5	H	H	H	H	2	2	N	3	69
2.3.1l	АЛМ-830	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	2	2	N	3	49
2.3.1m	АЛМ-831	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	H	2	2	N	3	66
2.3.1n	АЛМ-843	H	OCH_3	OCH_3	H	H	2	2	N	3	60
2.3.1o	АЛМ-863	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	2	2	O	2	47
2.3.1p	АЛМ-867	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	2	2	S	2	16

Схема 22. Синтез линейных симметричных бис-арил-азаалканов **2.3.1**.

В подавляющем большинстве случаев для восстановления использовалось каталитическое гидрирование при атмосферном давлении на палладиевом катализаторе (10% Pd на угле). В случае проведения реакции с 2,2'-тиобис(этиламином) **2.3.8** восстановление проводилось действием натрийцианборгидрида [534]. В качестве ароматических альдегидов в синтезах использовались моно-, ди- и три-

метоксибензальдегиды, замещенные по различным положениям, этоксибензальдегид. В качестве алифатических триаминов **2.3.6** были использованы диэтилентриамин (n = m = 2); дипропилентриамин (n = m = 3) и N^1-(2-аминоэтил)пропан-1,3-диамин (n = 2; m = 3). Также проводился синтез с 2,2'-оксобис(этиламином) **2.3.7** (X = O; n = m = 2) и 2,2'-тиобис(этиламином) **2.3.8** (X = S; n = m = 2). Следует отметить, что при использовании алифатических триаминов **2.3.6** в реакциях не наблюдалось побочного продукта восстановления по вторичному атому азота. Продукты восстановления превращали далее в их водорастворимые соли - гидрохлориды.

Аналогичным образом были получены линейные симметричные бис-арил-азаалканы **2.3.2** [531, 532] (схема 23). В этом случае в качестве ароматического альдегида использовался только 2,3,4-триметоксибензальдегид, а в качестве алифатических диаминов **2.3.9** – незамещенные соединения (R^{11}, R^{12} = H) с длиной цепи от 3 до 6 (n = 1-4), а также 2,2-диметилпропандиамин и 2-гидроксипропандиамин. Восстановление осуществлялось при помощи каталитического гидрирования на палладиевом катализаторе. Продукты выделяли в виде солей – дигидрохлоридов.



Соединения	Шифр	R^{11}	R^{12}	n	Выход, %
2.3.2a	АЛМ-844	H	H	3	59
2.3.2b	АЛМ-845	H	H	4	59
2.3.2c	АЛМ-847	H	H	2	66
2.3.2d	АЛМ-850	OH	H	1	60
2.3.2e	АЛМ-851	H	H	1	71
2.3.2f	АЛМ-861	CH_3	CH_3	1	58

Схема 23. Синтез линейных симметричных бис-арил-азаалканов **2.3.2**.

Для получения несимметричных структур **2.3.1** и **2.3.2** на первом этапе были синтезированы соответствующие моно-замещенные амины **2.3.10** и **2.3.12** (схема 24). Их получали путем взаимодействия ароматических альдегидов с трехкратным избытком соответствующих диэтилентриамина или пропандиамина в условиях каталитического гидрирования. Моно-замещенный триамин **2.3.10** дополнительно был выделен в виде тригидрохлорида **2.3.11** для оценки его активности.

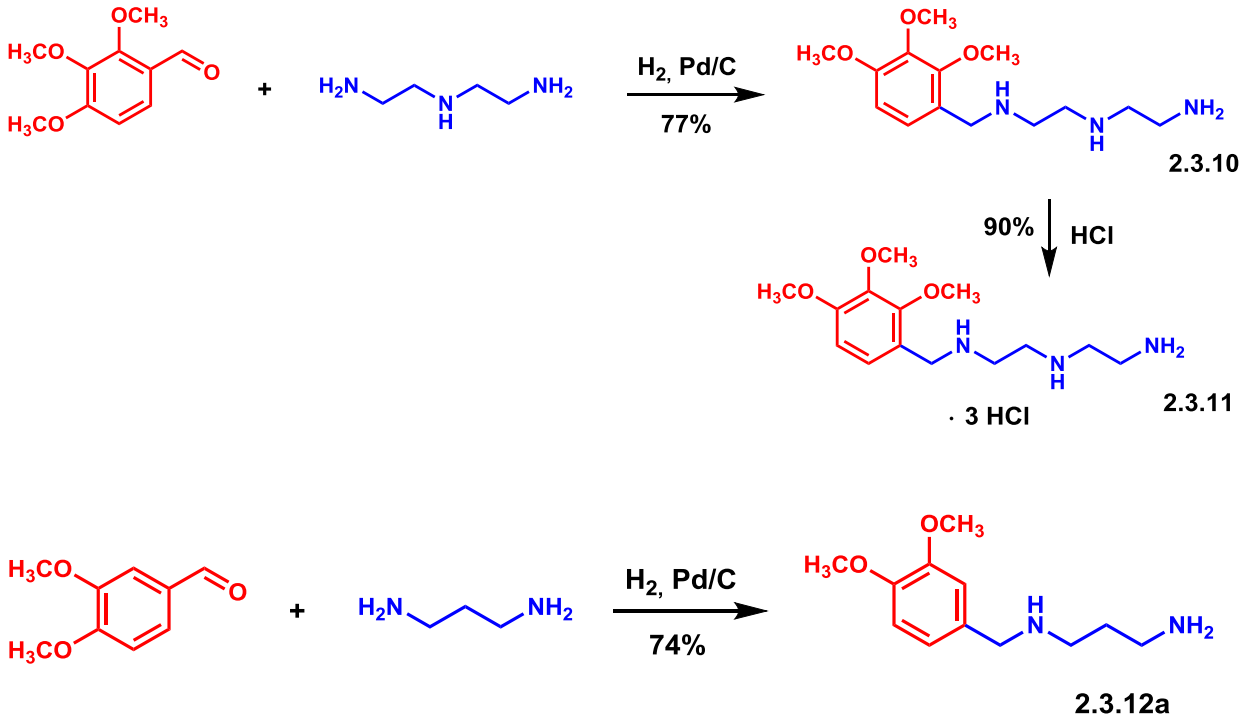
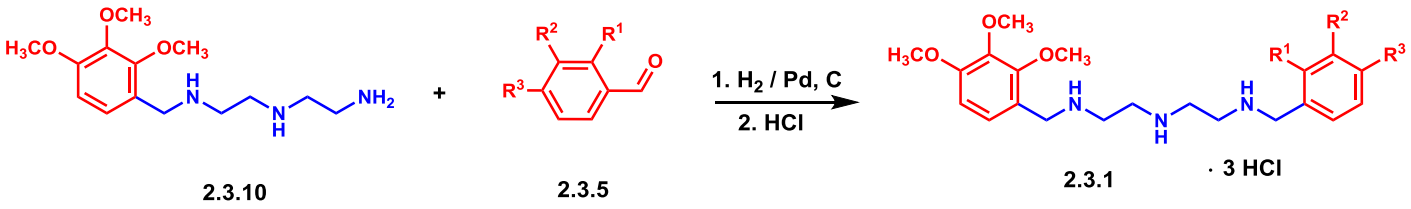


Схема 24. Получение моно-замещенных арил-азаалканов **2.3.10** и **2.3.12**.

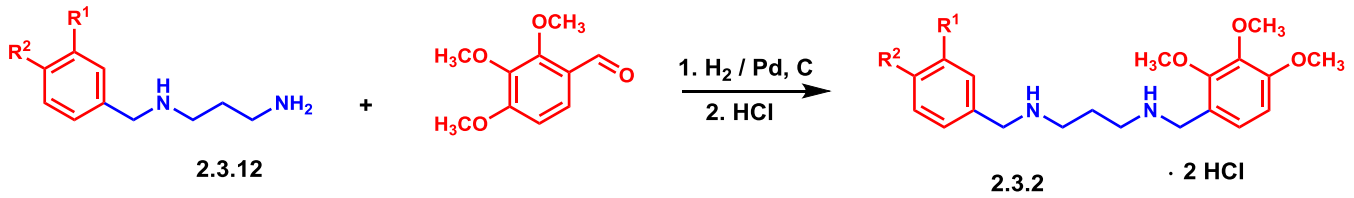
N^1-(2-Аминоэтил)-N^2-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамин **2.3.10** вводили в реакцию восстановительного аминирования со вторым ароматическим альдегидом **2.3.5** в условиях каталитического гидрирования, в результате чего образовывались несимметричные соединения ряда **2.3.1**, выделяемые в виде тригидрохлоридов [535] (схема 25).



Соединения	Шифр	R^1	R^2	R^3	Выход, %
2.3.1q	АЛМ-864	H	H	H	83
2.3.1r	АЛМ-868	H	OH	OCH_3	81
2.3.1s	АЛМ-869	H	OCH_3	OH	73
2.3.1t	АЛМ-870	OH	OCH_3	H	83
2.3.1u	АЛМ-871	OCH_3	H	H	74
2.3.1v	АЛМ-872	H	OCH_3	H	71
2.3.1w	АЛМ-873	H	H	OCH_3	79

Схема 25. Синтез линейных несимметричных бис-арил-азаалканов **2.3.1**.

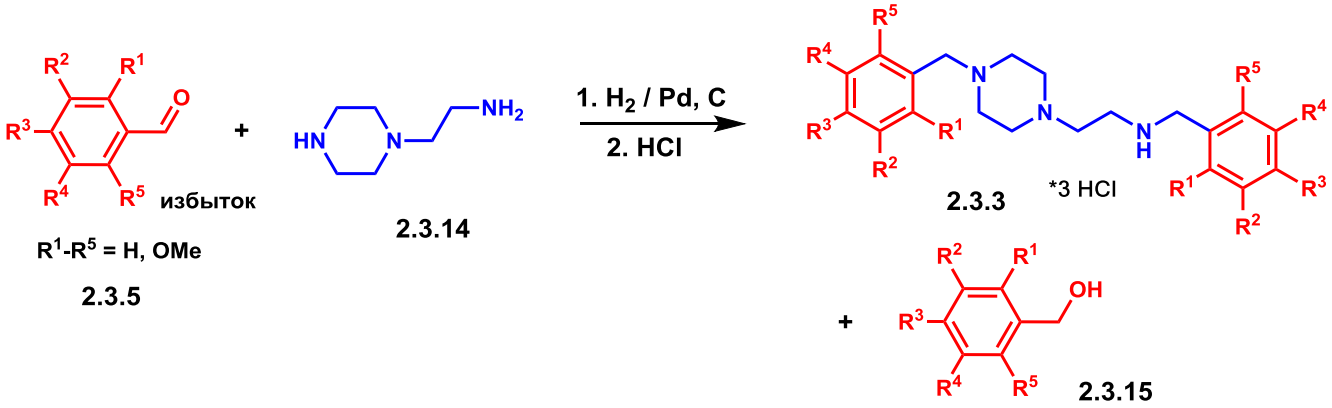
Подобным образом монозамещенные пропандиамины вводили в реакцию с 2,3,4-триметоксибензальдегидом, что приводило к образованию соответствующих дигидрохлоридов несимметричных производных **2.3.2** (схема 26).



Соединения	Шифр	R^1	R^2	Выход, %
2.3.2g	АЛМ-865	OCH_3	OCH_3	70
2.3.2h	АЛМ-866	H	H	77

Схема 26. Синтез линейных несимметричных бис-арил-азаалканов **2.3.2**.

Синтез 1-(алкоксибензил)-4-[2-((алкоксибензил)амино)этил]пиперазинов **2.3.3** осуществлялся аналогично предыдущим схемам с использованием метокси-замещенных ароматических альдегидов **2.3.5** и *N*-(2-аминоэтил)пиперазина (**2.3.14**) [526, 533] (схема 27).



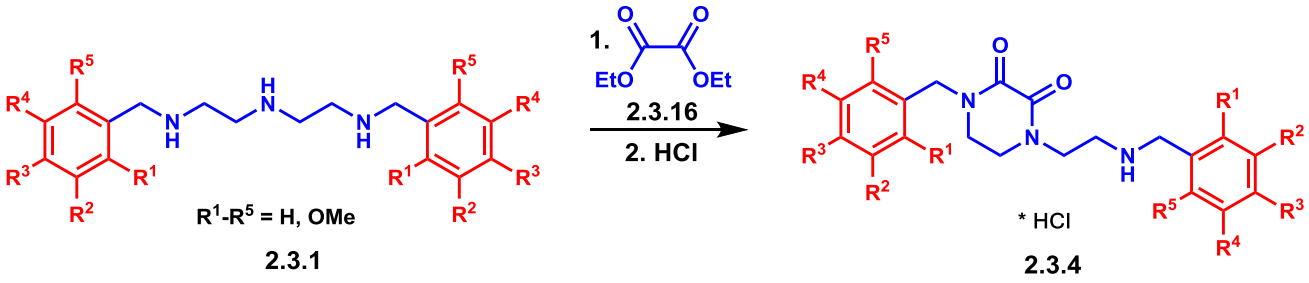
Соединения	Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	Выход, %
2.3.3a	АЛМ-838	H	OCH_3	OCH_3	H	H	38
2.3.3b	АЛМ-839	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	26
2.3.3c	АЛМ-840	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	27
2.3.3d	АЛМ-841	OCH_3	H	H	H	H	28
2.3.3e	АЛМ-842	OCH_3	H	OCH_3	H	H	34

Схема 27. Синтез 1-(алкоксибензил)-4-[2-((алкоксибензил)амино)этил]пиперазинов **2.3.3**

При этом в условиях каталитического гидрирования и избытка альдегидов **2.3.5** выходы реакций были не высоки вследствие того, что одна из участвующих в реакции

аминогрупп является вторичной. Вследствие низкой скорости восстановительного аминирования с участием вторичной аминогруппы в данных реакциях наблюдалось существенное побочное восстановление избытка альдегидов до соответствующих спиртов **2.3.15**. 1-(Алкоксибензил)-4-[2-((алкоксибензил)амино)этил]пиперазины **2.3.3** выделялись в виде растворимых солей тригидрохлоридов.

1-(Алкоксибензил)-4-[2-((алкоксибензил)амино)этил]пиперазин-2,3-дионы **2.3.4** были получены из соответствующих триаминов **2.3.1** путем их взаимодействия с диэтилоксалатом **2.3.16** (схема 28). Образующиеся соединения **2.3.4** выделяли в виде гидрохлоридов [525].



Соединения	Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	Выход, %
2.3.4a	АЛМ-832	OCH_3	H	H	H	H	61
2.3.4b	АЛМ-833	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	76
2.3.4c	АЛМ-835	H	OCH_3	OCH_3	H	H	44
2.3.4d	АЛМ-836	OCH_3	H	OCH_3	H	H	54
2.3.4e	-	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	60

Схема 28. Синтез 1-(алкоксибензил)-4-[2-((алкоксибензил)амино)этил]пиперазин-2,3-дионов **2.3.4**

Для соединения АЛМ-802 (тригидрохлорид N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)-амино]этил}-1,2-этандиамина) было проведено дополнительное исследование по получению его солей с органическими кислотами. Цель такого исследования заключалась в том, чтобы снизить риск потенциального местно-раздражающего действия и нежелательных органолептических свойств соединения АЛМ-802. Действительно, АЛМ-802, являясь тригидрохлоридом слабого основания, имеет низкое значение pH раствора (менее 4).

В связи с этим нами были синтезированы две органические соли основания АЛМ-802 – цитрат и сукцинат [536] (схема 29). Оба этих соединения получались в виде кристаллических водорастворимых соединений, причем, по данным спектров ЯМР, в сукцинате на 1 молекулу основания триамина приходилось 1.5 молекул янтарной кислоты, а в цитрате – 1.8 молекул лимонной кислоты.

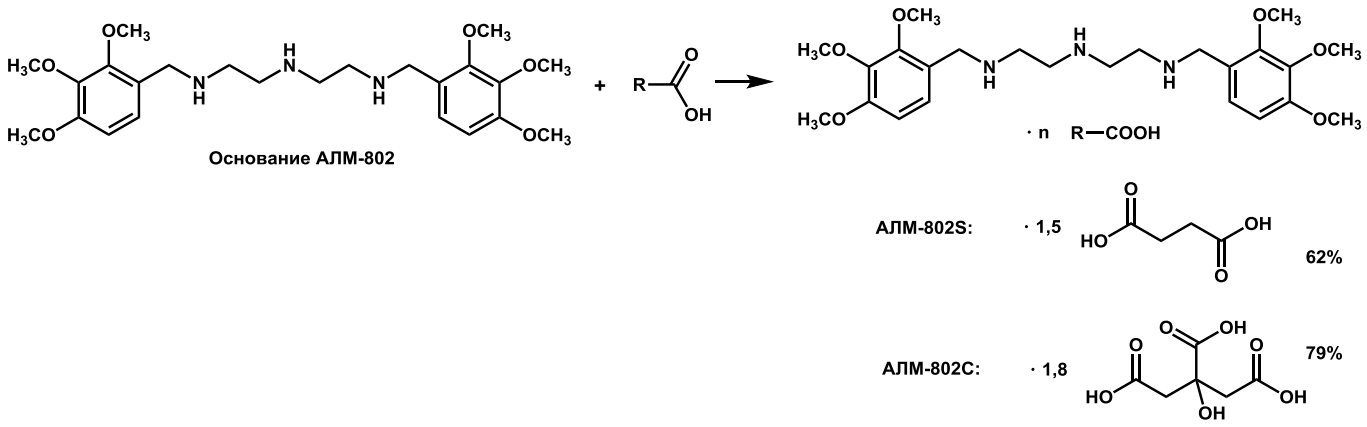


Схема 29. Синтез органических солей основания АЛМ-802

Значение показателя pH солей АЛМ-802 определяли в дистиллированной воде (значение pH = 5.0). Для определения pH приготавливали растворы солей N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина с концентрацией 0.08 моль/л. Результаты определения значений pH водных растворов соединений АЛМ-802, АЛМ-802-S и АЛМ-802-C представлены в таблице 28.

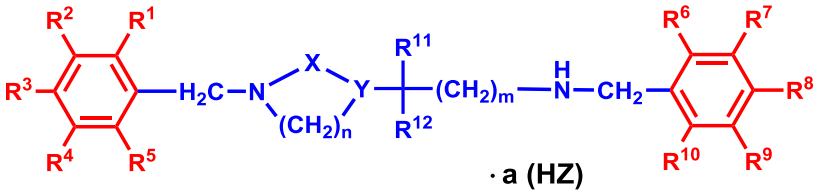
Таблица 28. Определение значений pH водных растворов солей N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина

Шифр	Кислотный остаток	Молекулярная масса, г/моль	Навеска	pH раствора
АЛМ-802	3* HCl	572.96	46 мг	3.5
АЛМ-802S	1.5* $(CH_2CO_2H)_2$	640.71	51 мг	5.8
АЛМ-802C	1.8* $HO_2CC(OH)(CH_2CO_2H)_2$	809.40	65 мг	5.5

Согласно результатам определения pH водных растворов различных солей основания АЛМ-802 значение pH 0.08 М раствора тригидрохлорида составило 3.5, в то время как для солей органических кислот – сукцината АЛМ-802-S и цитрата АЛМ-802-C – pH 0.08 М растворов составили 5.8 и 5.5, соответственно. Таким образом, было подтверждено преимущество органических солей N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)-амино]этил}-1,2-этан-диамина, заключающееся в существенно более высоких значениях pH их водных растворов.

Все синтезированные соединения суммированы в таблице 29. Все они представляли собой белые или светлые кристаллические водорастворимые вещества, что было важно для проведения фармакологических исследований.

Таблица 29. Синтезированные биароматические соединения **2.2.1-2.2.4**



Шифр	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7	R^8	R^9	R^{10}	R^{11}	R^{12}	n	m	X	Y	a	HZ
АЛМ-802	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-802S	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	1.5	Янтарная
АЛМ-802С	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	1.8	Лимонная
АЛМ-803	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-805	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	3	2	-	N	3	HCl
АЛМ-806	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	3	2	-	N	3	HCl
АЛМ-807	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	3	2	-	N	3	HCl
АЛМ-811	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	2	-	N	3	HCl
АЛМ-812	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	3	2	-	N	3	HCl
АЛМ-815	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-819	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-820	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-821	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-822	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	H	3	2	-	N	3	HCl
АЛМ-824	OC_2H_5	H	H	H	H	OC_2H_5	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-830	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-831	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
АЛМ-832	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	HCl
АЛМ-833	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	HCl
АЛМ-835	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	HCl
АЛМ-836	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CO-CO	N	1	HCl

AJIM-838	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	HCl
AJIM-839	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	HCl
AJIM-840	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	HCl
AJIM-841	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	HCl
AJIM-842	OCH_3	H	OCH_3	H	H	OCH_3	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	CH_2CH_2	N	3	HCl
AJIM-843	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
AJIM-844	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	CH	2	HCl
AJIM-845	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	2	-	CH	2	HCl
AJIM-847	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	1	1	-	CH	2	HCl
AJIM-850	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OH	H	0	1	-	CH	2	HCl
AJIM-851	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	0	1	-	CH	2	HCl
AJIM-861	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	CH_3	CH_3	0	1	-	CH	2	HCl
AJIM-863	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	O	2	HCl
AJIM-864	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
AJIM-865	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	0	1	-	CH	2	HCl
AJIM-866	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	0	1	-	CH	2	HCl
AJIM-867	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	S	2	HCl
AJIM-868	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OH	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
AJIM-869	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OH	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
AJIM-870	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OH	OCH_3	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
AJIM-871	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
AJIM-872	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl
AJIM-873	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	H	H	H	2	1	-	N	3	HCl

2.3.4. Скрининг кардиопротекторных свойств биароматических соединений 2.3.1-2.3.4 веществ *in vivo*[1]

Так как соединения, обладающие антиаритмическими свойствами, как правило, являются достаточно токсичными, то для подбора доз с целью их исследования часто отталкиваются от их токсичности. При этом перспективными для развития являются вещества, активные дозы которых не превышают 1/10 от значения их полулетальной дозы (LD_{50}). В связи с этим нами на первом этапе *in vivo*-исследований синтезированных соединений проводилась оценка их острой токсичности у мышей при в/б введении [523–533, 535, 536]. На основании этих данных производился подбор доз для дальнейшего скрининга. При этом мы исходили из того, что доза для изучения активности должна быть не более, чем 1/20 часть от значения LD_{50}.

Результаты определения острой токсичности соединений представлены в таблице 30. В ней приведены значения LD_{50} в мг/кг, а также произведен перерасчет параметра LD_{50} в единицы мкмоль/кг для сопоставления веществ друг с другом. Установлено, что полулетальные дозы для всех веществ находились в диапазоне от 35.1 до 746.0 мг/кг (в пересчете на мольные дозы от 61.3 до 1245.4 мкмоль/кг). Таким образом, исследованные соединения относятся к III (диапазон LD_{50} 10-100 мг/кг) и IV (диапазон LD_{50} 100-1000 мг/кг) классам токсичности. Анализ связи «структура-токсичность» позволил выявить в исследованном ряду следующие закономерности (рис. 115): более токсичными оказались соединения, одновременно содержащие алкокси-заместители в орто-положениях арильных групп и не содержащие их в мета-положениях. В частности, соединение АЛМ-830 с симметричными 2,4,6-триметоксифенильными группами оказалось наиболее токсичным в исследованном ряду со значением LD_{50} 61.3 мкмоль/кг. Наименее токсичными были вещества без заместителей в орто-положениях ароматических фармакофоров, но содержащие, прежде всего, *мета*-, а также *пара*-метоксигруппы. Например, соединение АЛМ-839 с 3,4,5-триметоксифенильными группами и пиперазин-содержащим линкером имело LD_{50} 1245.4 мкмоль/кг, и являлось наименее токсичным в группе. Таким образом, среди исследованных веществ их токсичность различалась максимум в 20 раз.

[1] Исследования выполнены в соавторстве с д.м.н., проф. С.А. Крыжановским (лаборатория фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)

Таблица 30. Оценка острой токсичности соединений **2.3.1-2.3.4**

Шифр	**Мол. вес.**	LD_{50}		Иссл. доза, мг/кг
		Мг/кг, в/б	**мкмоль/кг, в/б**	
АЛМ-802	573,0	118,8	195,1	1
АЛМ-802S	640,7	123,1	192,1	2.15
АЛМ-802C	809,4	153,6	189,8	2.75
АЛМ-803	573,0	131,1	228,8	1
АЛМ-805	601,0	87,6	145,8	1
АЛМ-811	587,0	91,7	156,2	1
АЛМ-812	541,0	62,0	114,6	1
АЛМ-815	512,9	90,9	177,2	1
АЛМ-819	452,9	116,6	257,5	1
АЛМ-820	512,9	163,3	318,4	1
АЛМ-821	512,9	138,3	269,6	1
АЛМ-822	541,0	106,8	197,4	1
АЛМ-824	480,9	50,1	104,2	1
АЛМ-830	573,0	35,1	61,3	1
АЛМ-831	573,0	97,8	170,7	1
АЛМ-832	433,9	161,2	371,5	2
АЛМ-833	554,0	226,3	408,5	2
АЛМ-835	494,0	494,9	1001,8	10
АЛМ-836	494,0	188,8	382,2	2
АЛМ-838	538,9	277,0	514,0	2
АЛМ-839	599,0	746,0	1245,4	8
АЛМ-840	599,0	192,0	320,5	2
АЛМ-841	478,9	33,8	70,6	1
АЛМ-842	538,9	127,0	235,6	2
АЛМ-843	512,9	343,2	669,1	3
АЛМ-844	535,5	64,2	119,9	1
АЛМ-845	549,5	71,2	129,6	2
АЛМ-847	521,5	90,6	173,7	н.и.
АЛМ-848	283,4	132,4	467,2	3
АЛМ-850	523,5	96,5	184,4	3
АЛМ-851	507,5	93,3	183,9	3
АЛМ-861	535,5	85,1	158,9	1
АЛМ-863	537,5	164,8	306,6	2
АЛМ-864	482,9	198,4	410,9	2
АЛМ-865	477,4	282,5	591,7	2
АЛМ-866	417,4	153,1	366,8	2
АЛМ-867	553,5	141,5	255,6	3
АЛМ-868	528,9	146,8	277,6	3
АЛМ-869	528,9	190,5	360,2	3
АЛМ-870	528,9	123,3	233,1	3
АЛМ-871	512,9	118,4	230,8	2.5
АЛМ-872	512,9	233,1	454,5	4.5
АЛМ-873	512,9	205,1	399,9	4

Введение циклического фрагмента в линкер соединений приводило к снижению их токсичности, при этом в целом пиперазин-2,3-дионовые производные были менее токсичными, чем пиперазиновые. Анализ влияния строения центрального атома (Y) на примере 2,3,4-триметоксизамещенных веществ, показал, что токсичность увеличивается в следующем ряду: O < S < NH < CH_2 (LD_{50} 306.6 (АЛМ-863); 255.6 (АЛМ-867); 195.1 (АЛМ–802); 119.9 (АЛМ-844) мкмоль/кг, соответственно). Введение метильных или гидроксильного заместителей почти не влияло на токсичность соответствующих веществ. Также не играла большой роли на токсические свойства длина линкера, связывающего ароматические кольца.

При сопоставлении токсичности различных солей основания АЛМ-802 оказалось, что все они имели практически идентичные значения LD_{50} (190-195 мкмоль/кг). Это свидетельствует о том, что вклад в токсичность вносит только само основание соединения АЛМ-802, а кислотный остаток на этот параметр влияния не оказывает. Данный факт полностью согласуется с чрезвычайно низкой токсичностью гидрохлоридов, сукцинатов и цитратов.

По результатам определения значений острой токсичности веществ были подобраны указанные в таблице 30 дозы для их скрининговых исследований: от 1 мг/кг для наиболее токсичных до 10 мг/кг для наименее токсичных.

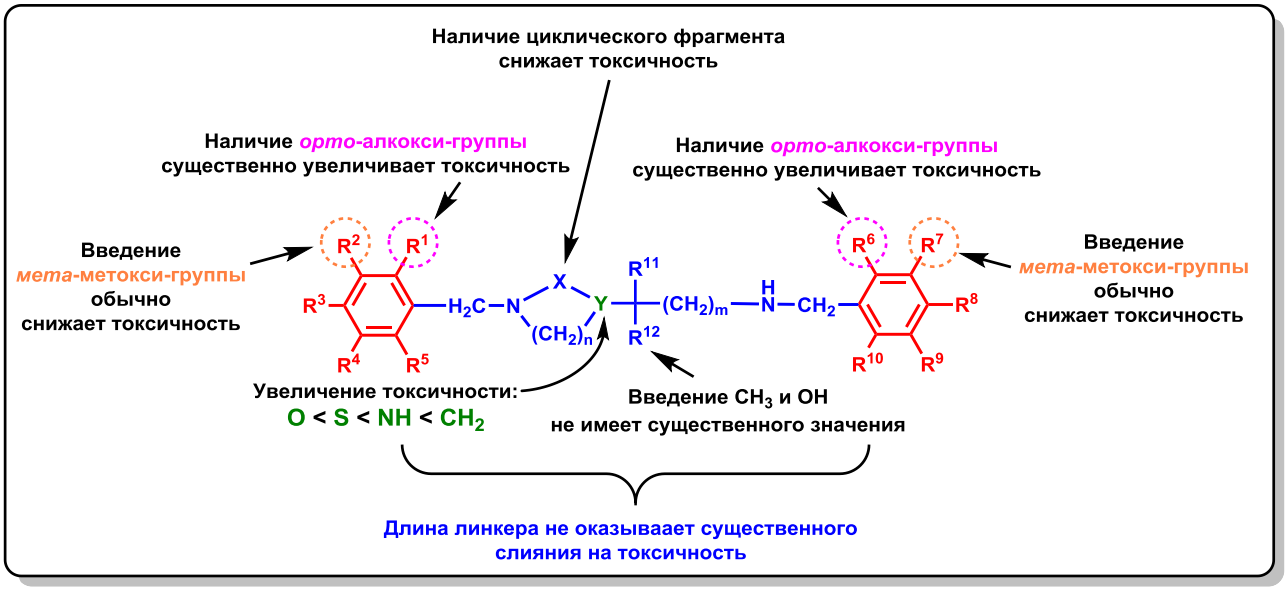


Рисунок 115. Анализ связи «структура-токсичность» в ряду биароматических соединений **2.2.1-2.2.4**

Так как у новых соединений **2.2.1-2.2.4** предполагался мультитаргетный механизм действия, отвечающий различным классам кардиотропных средств, то их *in vivo*-скрининг осуществлялся с использованием ряда различных моделей аритмии и ишемии у крыс при в/в введении [523–533, 537].

1. На модели аконитиновой аритмии оценивали способность веществ препятствовать развитию нарушения ритма сердца на фоне введения аконитина. Эта модель наиболее характерна для антиаритмиков I класса по классификации Vaughan-Williams, то есть для блокаторов натриевых каналов. В качестве препарата сравнения в этой модели использовался прокаинамид в дозе 20 мг/кг.

2. На модели хлоридкальциевой аритмии определяли количество выживших животных после введения хлорида кальция. В этой модели антиаритмическими свойствами обладают, прежде всего, антиаритмики I и IV классов по классификации Vaughan-Williams (блокаторы натриевых и кальциевых) каналов. Препаратом сравнения в этой модели являлся верапамил в дозе 1 мг/кг.

3. С использованием модели электрической фибрилляции желудочков сердца проводился анализ влияния веществ на порог фибрилляции, вызванной электрическим током (модель характерна для антиаритмиков III класса по классификации Vaughan-Williams).

4. На модели реперфузионной фибрилляции сердца оценивали количество животных с ЖТ и/или фибрилляциями предсердий на фоне одномоментной перевязки коронарной артерии. В этой модели активными являются в большей степени антиаритмики I и IV классов по классификации Vaughan Williams. В качестве препарата сравнения в этой модели был использован верапамил в дозе 1 мг/кг.

5. Анализ антиишемической активности веществ проводили в модели изопротереноловой ишемии путем определения величины депрессии сегмента ST на ЭКГ крыс (II стандартное отведение) через 5 минут от момента начала инфузии изопротеренола. В этой модели в качестве препаратов сравнения использовались верапамил (1 мг/кг) и ранолазин (10 мг/кг).

Суммированные результаты скрининговых исследований в пяти упомянутых моделях представлены в таблице 31.

Таблица 31. Кардиотропная активность соединений **2.3.1-2.3.4**

Шифр	LD_{50}, мкмоль/кг, в/б	Иссл. доза, мг/кг	Активность в модели изопротереноловой ишемии[1]	Активность в модели аконитиновой аритмии[2]	Активность в модели хлоридкальциевой аритмии[3]	Активность в модели электрической фибрилляции желудочков сердца[4]	Активность в модели реперфузионной фибрилляции желудочков сердца[2]	Суммарная активность, баллы[5]
АЛМ-802	195.1	1	95 p = 0.001	100 p = 0.001	66.7 p = 0.008	8 p = 0.018	84.6 p = 0.0004	17
АЛМ-802S	192.1	2.15	94.1 p = 0.0001	100 p = 0.001	не изучалось	не изучалось	не изучалось	8
АЛМ-802С	189.8	2.75	82.4 p = 0.0001	100 p = 0.001	не изучалось	не изучалось	не изучалось	8
АЛМ-803	228.8	1	15	0	66.7 p = 0.008	38 p = 0.018	5.2	5
АЛМ-805	145.8	1	15	0	50 p = 0.036	0	не изучалось	2
АЛМ-811	156.2	1	70 p = 0.011	0	0	0	75.6 p = 0.0004	6
АЛМ-812	114.6	1	60 p = 0.02	0	66.7 p = 0.008	0	50	5
АЛМ-815	177.2	1	45	50 p = 0.029	0	0	38.5	2
АЛМ-819	257.5	1	20	0	0	4 p = 0.062	не изучалось	1
АЛМ-820	318.4	1	35	0	0	0	не изучалось	0
АЛМ-821	269.6	1	55 p = 0.025	50 p = 0.029	0	8.5 p = 0.028	50.6 p = 0.0223	8
АЛМ-822	197.4	1	25	0	0	4 p = 0.043	не изучалось	2
АЛМ-824	104.2	1	35	100 p = 0.001	50 p = 0.036	0	не изучалось	6
АЛМ-830	61.3	1	не изучалось	не изучалось	не изучалось	3 p = 0.043	не изучалось	2
АЛМ-831	170.7	1	не изучалось	не изучалось	не изучалось	0	не изучалось	0
АЛМ-832	371.5	2	0	33.3	16.7	не изучалось	22.7	0

Шифр	LD_{50}, мкмоль/кг, в/б	Иссл. доза, мг/кг	Активность в модели изопротереноловой ишемии[1]	Активность в модели аконитиновой аритмии[2]	Активность в модели хлоридкальциевой аритмии[3]	Активность в модели электрической фибрилляции желудочков сердца[4]	Активность в модели реперфузионной фибрилляции желудочков сердца[2]	Суммарная активность, баллы[5]
АЛМ-833	408.5	2	не изучалось	50	0	не изучалось	14.3	0
АЛМ-835	1001.8	10	0	50	33.3	не изучалось	15.5	0
АЛМ-836	382.2	2	28.6	50	50 p = 0.05	не изучалось	35.7	2
АЛМ-838	514.0	2	7.7	0	33.3	не изучалось	0.9	0
АЛМ-839	1245.4	8	46.2	83.3 p = 0.003	66.7 p = 0.021	не изучалось	10.9	5
АЛМ-840	320.5	2	30.8	100 p = 0.0003	16.7	не изучалось	10.9	4
АЛМ-841	70.6	1	7.7	0	0	не изучалось	20.9	0
АЛМ-842	235.6	2	30.8	42.9 p = 0.077	16.7	не изучалось	10.9	1
АЛМ-843	669.1	3	27	42.9	71.4 p = 0.021	не изучалось	12.5	2
АЛМ-844	119.9	1	60 p = 0.00002	71.4 p = 0.014	66.7 p = 0.045	не изучалось	25	8
АЛМ-845	129.6	2	80 p = 0.00001	100 p = 0.004	16.7	не изучалось	0	7
АЛМ-848	467.2	3	не изучалось	0	0	не изучалось	не изучалось	0
АЛМ-850	184.4	3	52.9 p = 0.0001	71.4 p = 0.0073	62.5 p = 0.011	не изучалось	не изучалось	9
АЛМ-851	183.9	3	76.5 p = 0.0001	100 p = 0.00024	62.5 p = 0.011	не изучалось	не изучалось	10
АЛМ-861	158.9	1	44.4 p = 0.02	33.3	28.6	не изучалось	31.8	3
АЛМ-863	306.6	2	82.7 p = 0.0002	100 p = 0.0001	62.5 p = 0.011	не изучалось	29.8	10
АЛМ-864	410.9	2	66.5 p = 0.001	16.7	85.7 p = 0.0007	не изучалось	21.4	8
АЛМ-865	591.7	2	76.3 p = 0.0003	66.7 p = 0.06	28.6	не изучалось	5.6	5

Шифр	LD_{50}, мкмоль/кг, в/б	Иссл. доза, мг/кг	Активность в модели изопротереноловой ишемии[1]	Активность в модели аконитиновой аритмии[2]	Активность в модели хлоридкальциевой аритмии[3]	Активность в модели электрической фибрилляции желудочков сердца[4]	Активность в модели реперфузионной фибрилляции желудочков сердца[2]	Суммарная активность, баллы[5]
АЛМ-866	366.8	2	71.7 p = 0.0002	57.1 p = 0.0385	75 p = 0.0069	не изучалось	47.3 p = 0.015	11
АЛМ-867	255.6	3	42.1 p = 0.01	83.3 p = 0.0047	28.6	не изучалось	10	6
АЛМ-868	277.6	3	52 p = 0.014	75 p = 0.007	100 p = 0.0006	не изучалось	20	9
АЛМ-869	360.2	3	не изучалось	0	не изучалось	не изучалось	не изучалось	0
АЛМ-870	233.1	3	50.3 p = 0.017	100 p = 0.0006	100 p = 0.0006	не изучалось	40 p = 0.04	12
АЛМ-871	230.8	2.5	52.1 p = 0.005	100 p = 0.0006	83.3 p = 0.0141	не изучалось	30	9
АЛМ-872	454.5	4.5	61.3 p = 0.002	83.3 p = 0.0094	100 p = 0.0018	не изучалось	40 p = 0.04	11
АЛМ-873	399.9	4	83.4 p = 0.0001	100 p = 0.0012	100 p = 0.0018	не изучалось	25	10
Препараты сравнения								
Прокаин-амид		20		83.3 p = 0.0056				
Верапамил		1	81.3 p < 0,001		66.7 p = 0.045		62.5 p = 0.011	
Ранолазин		10	43.8 p = 0,022					

[1] Указан % восстановления сегмента ST после 5 мин инфузии изопротеренола на ЭКГ во II стандартном отведении относительно контроля; [2] Указан % увеличения количества животных без нарушений ритма относительно контроля; [3] 3 Указан % увеличения количества выживших животных относительно контроля;
[4] Активность рассчитана как увеличение порога фибрилляции желудочков в мА относительно контроля;
[5] Баллы активности расчитывались из значений "p": при $p > 0.1$ - 0 баллов; при $0.05 < p \leq 0.1$ - 1 балл; при $0.01 < p \leq 0.5$ - 2 балла; при $0.001 < p \leq 0.01$ - 3 балла; при $p \leq 0.001$ - 4 балла. Интенсивность окраски клеток показывает степень выраженности эффекта.

Анализ связи «структура-антиаритмическая активность» на модели аконитиновой аритмии позволил выявить следующие закономерности (рис. 116):

1. Более активными были соединения **2.3.1** и **2.3.2** с конформационно-свободными линкерами без циклических фрагментов. В пиперазин-содержащих структурах **2.3.3** активными были вещества с тремя метокси-группами в ароматических кольцах, а соединения с пиперазин-2,3-дионовым фрагментом **2.3.4** были не активными.
2. Важным для наличия активности в соединениях **2.3.1** было наличие *орто*-алкоксигруппы в одном из ароматических колец. При этом предпочтительным было 2,3,4-триметоксизамещение в этом кольце. При этом строение второго ароматического цикла не оказывало существенного влияния на активность. Также не имело существенного значение строение центрального атома. При этом в структурах с центральным атомом азота важным была длина линкера: активными были вещества с длиной линкера 10 и 11 связей, а при длине в 12 связей активность пропадала.
3. У диазаалкановых соединений **2.3.2**, в которых в одном из ароматических колец использовались именно 2,3,4-триметокси-группы, длина линкера не оказывала влияния на активность при ее широком варьировании (8-11 связей). Введение ОН-группы в линкер не изменяло активность соединений, а двух метильных групп – приводило к ее исчезновению. Во втором ароматическом кольце также предпочтительным было 2,3,4-триметоксизамещение.

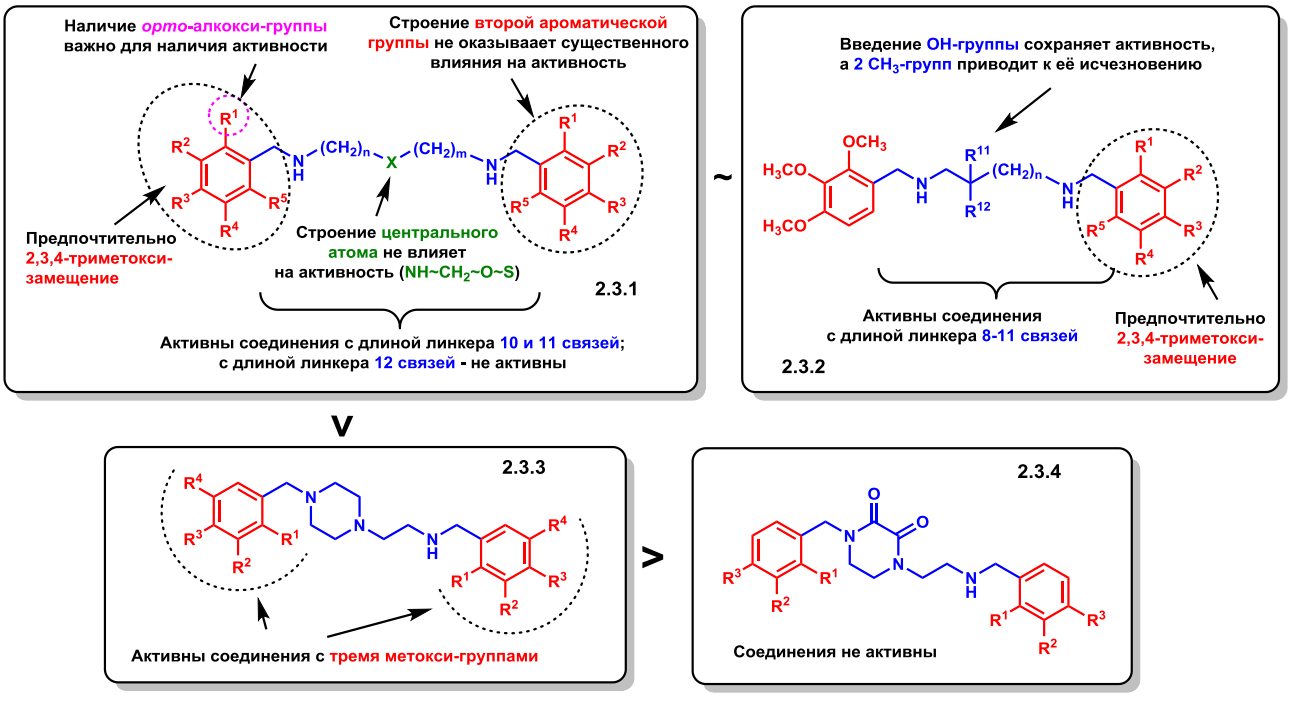


Рисунок 116. Анализ связи «структура-антиаритмическая активность» на модели аконитиновой аритмии для соединений **2.3.1-2.3.4**

При изучении активности веществ на модели хлоридкальциевой аритмии были выявлены следующие закономерности в связи «структура-активность» (рис. 117):

1. Активность наблюдалась преимущественно у соединений с линейным линкером **2.3.1** и **2.3.2**. В группе пиперазин содержащих структур **2.3.3** активным было только 3,4,5-триметоксипроизводное, а в группе пиперазин-2,3-дионовых соединений **2.3.4** – только 2,4-диметоксипроизводное.
2. В одном из фенильных колец линейных производных **2.3.1** и **2.3.2** предпочтительно было 2,3,4-триметоксизамещение, при этом *пара*-метоксигруппа была одной из важнейших для наличия активности. Строение второй ароматической группы не оказывало существенного влияния на активность веществ.
3. В линкере соединений **2.3.1** и **2.3.2** длина и его строение почти не влияли на активность. Неактивными были лишь вещества с атомом серы в центре линкера или при введении боковых метильных групп.

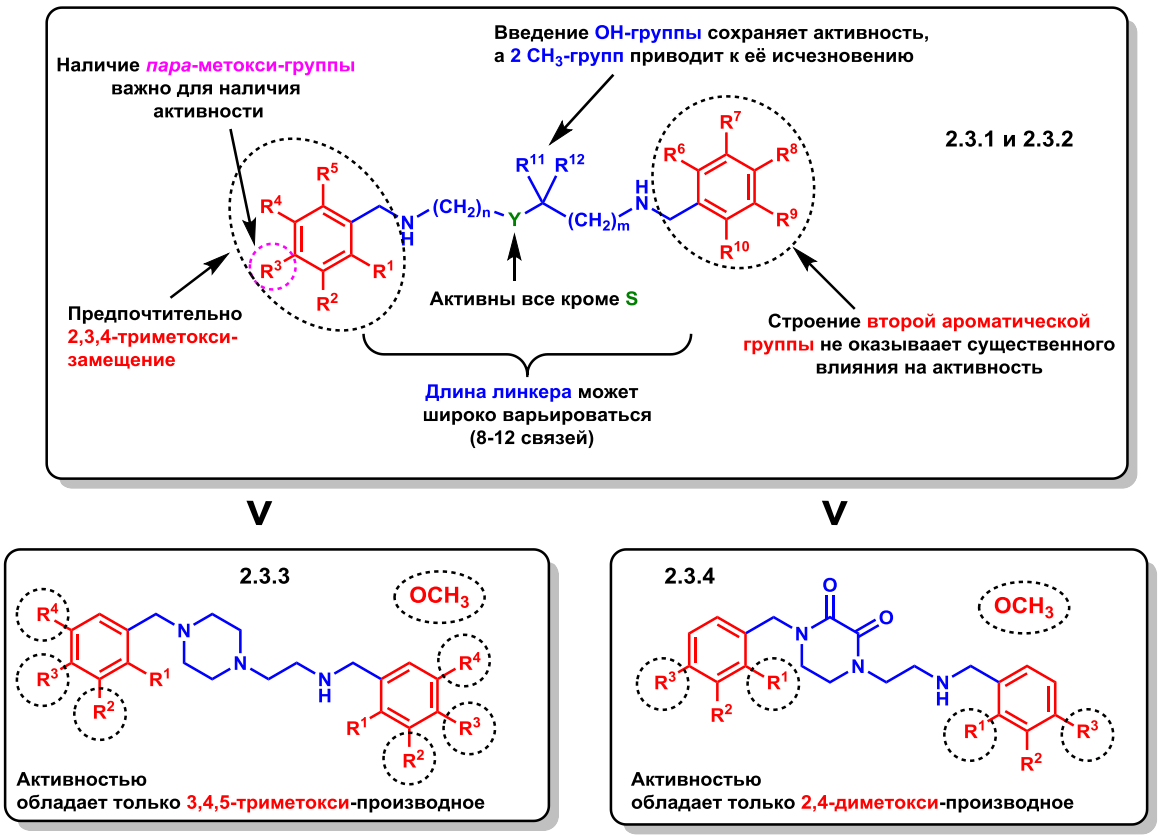


Рисунок 117. Анализ связи «структура-антиаритмическая активность» на модели хлоридкальциевой аритмии для соединений **2.3.1-2.3.4**

На модели электрической фибрилляции желудочков сердца были исследованы только линейные соединения **2.3.1** с триазаалкановым линкером. При этом при анализе связи «структура-активность» не было выявлено однозначной зависимости активности от

строения молекул. В большинстве активных молекул присутствовали *орто*-метоксигруппы в фенильных кольцах.

На модели реперфузионных фибрилляций сердца активность была выявлена у достаточно небольшого количества соединений, причем только у веществ с линейным линкером **2.3.1** и **2.3.2** и с атомом азота или углерода в качестве центрального атома Y (рис. 118). У всех активных веществ, за исключением одного, в одном ароматическом кольце присутствовали 2,3,4-триметокси группы. Длина линкера и строение второй ароматической группы не имели однозначного влияния на активность, при этом введение боковых заместителей в линкере приводило к исчезновению активности. Соединения **2.3.3** и **2.3.4** не обладали активностью в данной модели.

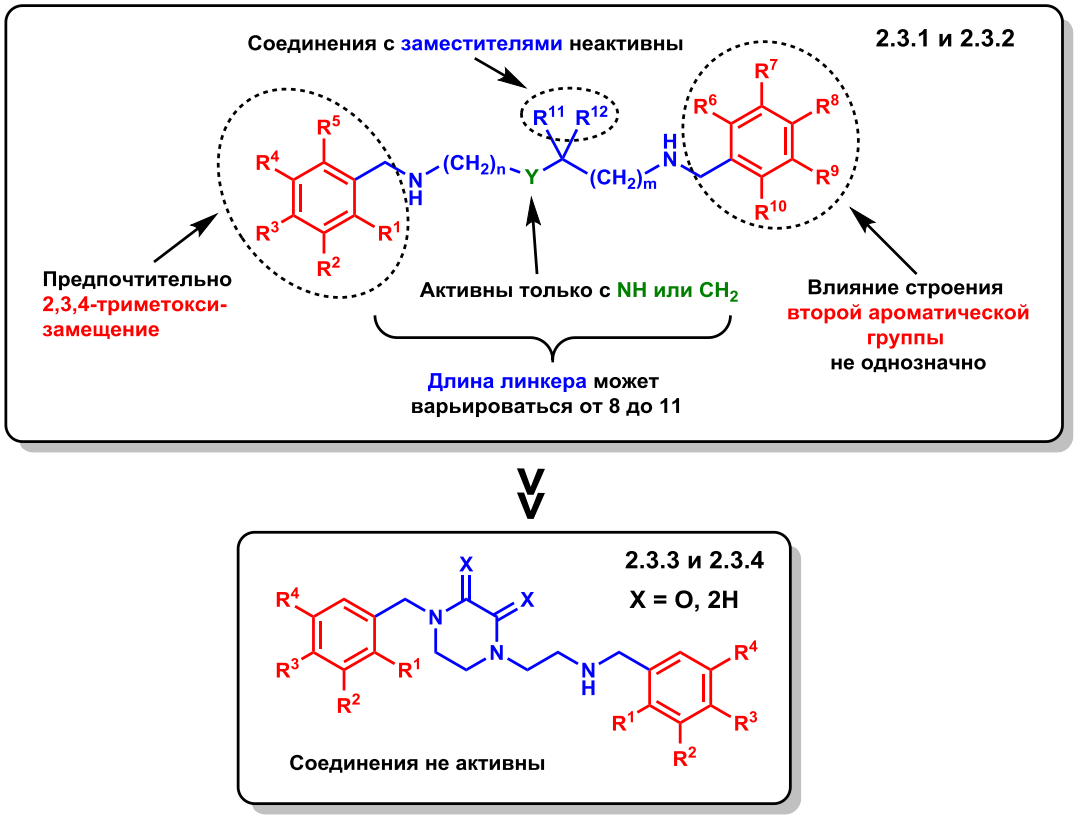


Рисунок 118. Анализ связи «структура-антиаритмическая активность» на модели реперфузионных фибрилляций сердца для соединений **2.3.1-2.3.4**

При изучении антиишемической активности веществ на модели изопротереноловой ишемии были установлены следующие закономерности в связи «структура-активность» (рис. 119):

1. Соединения с циклическим фрагментом в линкере **2.3.3** и **2.3.4** были неактивными.
2. В ряду линейных соединений **2.3.1** и **2.3.2** важным для антиишемической активности было наличие *орто*-метокси-группы в одном из ароматических

колец. При этом подавляющее большинство активных соединений содержали в этом кольце 2,3,4-триметокси группы. Исключение составили соединения АЛМ-812 с 2,4-диметоксифенильной группой и АЛМ-821 с 2,5-диметоксифенильной группой. Строение второго ароматического цикла не играло существенной роли в активности веществ.

3. Центральный атом в линейном линкере соединений **2.3.1** и **2.3.2** мог широко варьироваться без потери активности. Не изменяло активность и введение боковых заместителей в цепочку линкера. При этом длина линкера также могла варьироваться в широком интервале (от 8 до 12 связей).

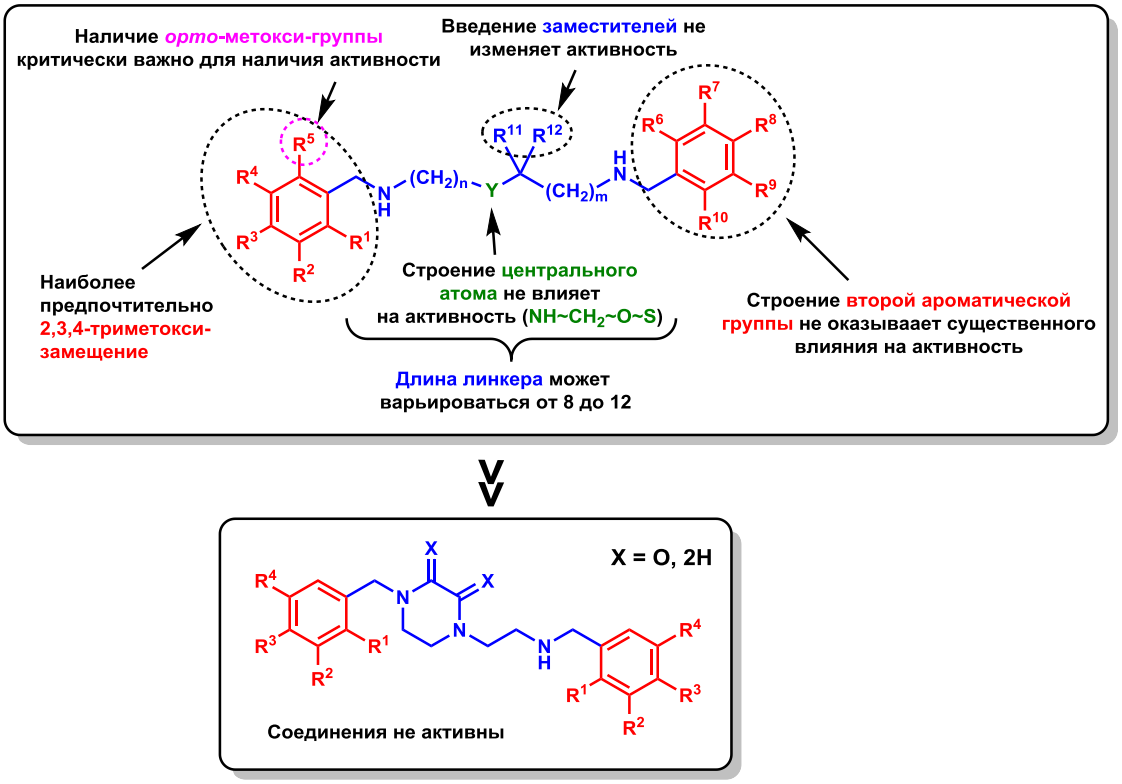


Рисунок 119. Анализ связи «структура-антиаритмическая активность» на модели изопротереноловой ишемии для соединений **2.3.1-2.3.4**

Для обобщения скрининговых данных по всем используемым пяти моделям все активности были переведены в баллы в зависимости от значимости различий между исследуемыми веществами и контрольной группой животных: при $p > 0.1$ – 0 баллов; при $0.05 < p \leq 0.1$ – 1 балл; при $0.01 < p \leq 0.5$ – 2 балла; при $0.001 < p \leq 0.01$ – 3 балла; при $p \leq 0.001$ – 4 балла.

Обобщенный анализ связи «структура-активность» по сумме баллов позволяет сделать следующие итоговые выводы: (рис. 120):

1. Многие производные **2.3.1-2.3.4** продемонстрировали наличие кардиопротекторной активности, что подтвердило эффективность использования предложенной нами обобщенной фармакофорной модели.

2. Среди алкоксифенилазаалканов групп **2.3.1-2.3.4** подавляющее большинство соединений с кардиопротекторной активностью находится в группе линейных соединений **2.3.1** и **2.3.2**. В меньшей степени активность, причем только антиаритмическая, была выявлена в группе **2.3.3** с пиперазиновым фрагментом в триазаалкановым линкере. В группе **2.3.4** с пиперазин-2,3-дионовым фрагментом активность полностью отсутствовала, за исключением умеренного эффекта соединения АЛМ-836 с 2,4-диметоксифенильными группами на модели хлоридкальциевой аритмии. Эти данные позволяют сделать предположение, что кардиопротекторная активность характерна для более конформационно свободных соединений.
3. Наибольшую антиишемическую и антиаритмическую активность во всех моделях проявляет соединение-лидер АЛМ-802 с линейным триазаалкановым линкером длиной 10 связей и с 2,3,4-триметоксифенильными заместителями (сумма баллов составляет 17). Органические соли основания АЛМ-802 сохраняют активность гидрохлорида.
4. Наличие центрального атома азота в линкере соединение АЛМ-802 не является критичным для его активности. Замена этого атома на другие кислород, или на CH_2-группу приводит к практически полному сохранению спектра аниаритмического и антиишемического действия соответствующих веществ, при этом исключением является сера-содержащий аналог, который существенно уступает по активности АЛМ-802.
5. Ключевую роль в наличие кардиопротекторной активности бис-алкоксифенилдиазаалканов **2.3.2** играют ароматические фармакофоры, в то время как строение и длина конформационно-свободного линкера оказывает меньшее влияние. Наилучшие результаты были получены для соединения АЛМ-851 с 1,3-диаминопропановым линкером. При этом введение дополнительной гидрокси-группы в пропановый линкер существенно не влияло на активность, в то время как добавление двух метильных групп приводило к исчезновению всех видов активности.
6. Лучшим ароматическим фармакофором оказалась 2,3,4-триметоксифенильная группа. Среди соединений **2.3.1-2.3.3** с этим фармакофором было выявлено наибольшее количество активных веществ. При этом установлено, что критичным является наличие хотя бы одной 2,3,4-триметоксифенильной группы в молекуле, а строение второй ароматической группы может варьироваться с меньшим влиянием на активность.

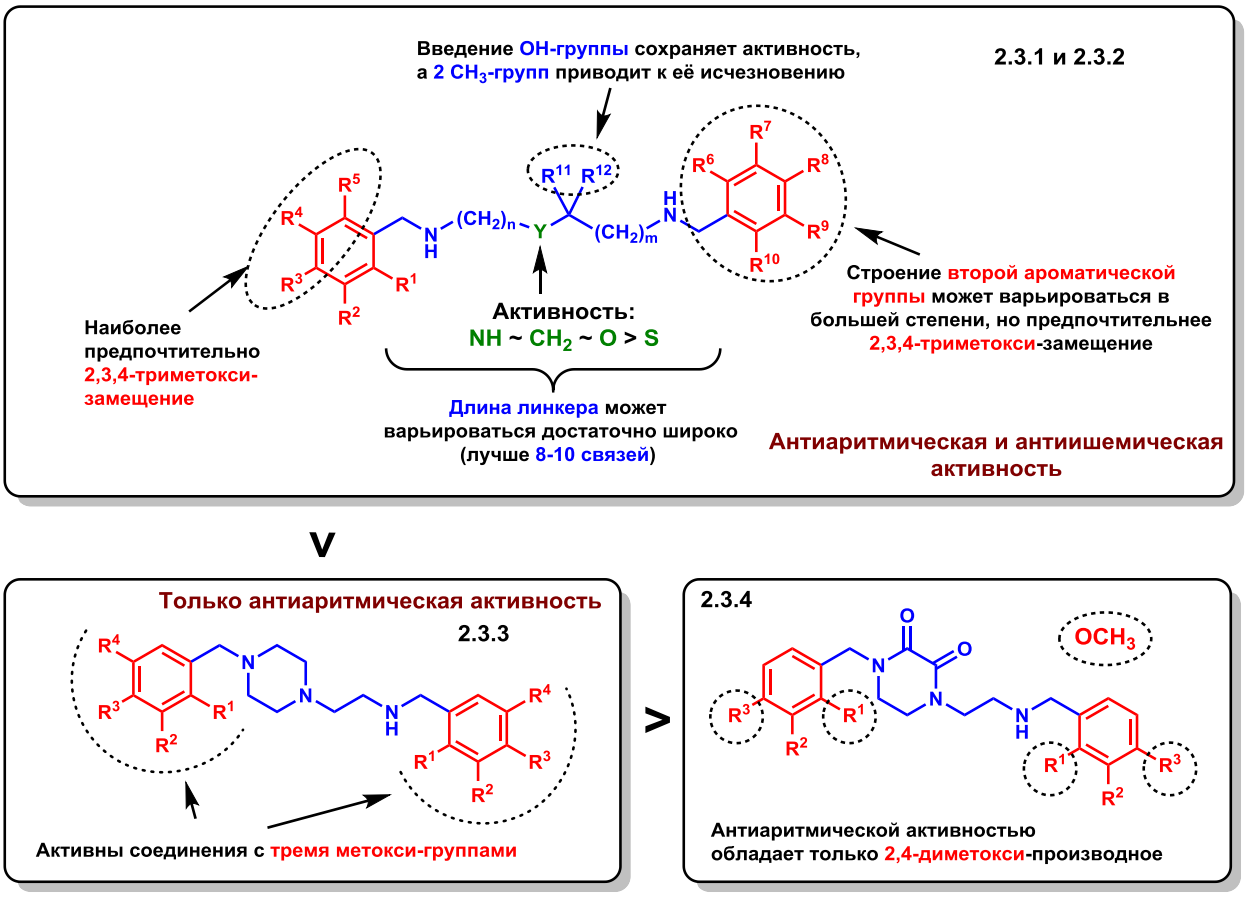


Рисунок 120. Суммарный анализ связи «структура-кардиотропная активность» в ряду биароматических соединений **2.3.1-2.3.4**

Таким образом по результатам скрининговых исследований в качестве соединения-лидера было отобрано АЛМ-802. Ближайшими к нему по активности лидерными веществами были следующие соединения:

- *орто*-ванилиновый аналог АЛМ-802 (АЛМ-870), в котором одно из ароматических колец соединения АЛМ-802 заменено на 2-гидрокси-3-метоксифенильное (12 баллов).

- *мета*- (АЛМ-872) и *пара*-метокси (АЛМ-873) аналоги АЛМ-802, отличающиеся от прототипа наличием только одной метокси-группы во втором ароматическом кольце (11 и 10 баллов, соответственно).

- кислородный аналог АЛМ-802 (АЛМ-863), отличающийся от АЛМ-802 заменой центрального атома азота на кислород (10 баллов).

- диазаалкановые соединения с пропановым линкером, либо с двумя 2,3,4-триметоксифенильными группами (АЛМ-851, 10 баллов), либо с одной 2,3,4-триметоксифенильной группой и с незамещенным фенильном кольцом в качестве второй ароматической группы (АЛМ-866, 11 баллов).

В литературе известны случаи, когда различные соли одного действующего основания проявляют различную активность. Например, в работе Толстиковой с

соавторами, в которой анализировалась антиаритмическая активность различных неорганических и органических солей алкалоида лаппаконитина было установлено, что лишь гидробромид этого соединения обладал антиаритмическими свойствами, в то время как гидрохлорид и сукцинат лаппаконитина активностью не обладали [538]. В связи с этим необходимо было выполнит исследование по оценке активностей различных солей соединения АЛМ-802. В результате нами было установлено, что органические соли АЛМ-802 –сукцинат АЛМ-802S и цитрат АЛМ-802C, полностью сохраняют антиаритмические и антиишемические свойства тригидрохлорида АЛМ-802 в эквимолярных дозах (2,15 – 2,75 мг/кг, в/в введение).

2.3.5. Анализ механизма действия соединения АМЛ-802

Для соединения-лидера АЛМ-802 был проведен набор исследований, посвященных анализу компонентов механизмов его действия. В свете гипотезы «мультитаргетного кардиопротектора», использовавшейся для дизайна вышеописанных групп, из которых был отобран АЛМ-802, целью исследований был охват анализа широкого спектра возможных биомишеней этого препарата, прежде всего, выбранных из тех восьми биомишеней, которые применялись при конструировании новых соединений.

In vitro анализ взаимодействий АЛМ-802 с Na^+, K^+ и Ca^{2+}-каналами

В исследовании, выполненном совместно с ФГБУН «Институт биофизики клетки» РАН, проводился *in vitro* анализ взаимодействия соединения АЛМ-802 с ионными каналами, которые могут быть вовлечены в механизмы его кардиопротекторных свойств [539]. Для анализа были выбраны потенциал-зависимые Na^+, K^+ и Ca^{2+}-каналы, которые являются наиболее распространенными биомишенями для антиаритмических препаратов. Эксперименты были выполнены на культуре нейронов гиппокампа крыс Вистар. Электрическую активность нейронов регистрировали методом пэтч-кламп в конфигурации *whole cell*.

Было установлено, что соединение АЛМ-802 блокирует потенциалзависимые Na^+- и K^+-каналы и не влияет на активность потенциалзависимых Ca^{2+}-каналов. Величина IC_{50} для Na^+-каналов составила 94 мкМ, а для K^+-каналов – 67 мкМ. Таким образом, эти данные очень хорошо согласуются с результатами, полученными при анализе соответствия соединения АЛМ-802 фармакофорным моделям лигандов Nav1.5-каналов и калиевых hERG-каналов и Kv1.5-каналов (степени соответствия 68.5%, 73.7% и 59.4%, соответственно). Наличие указанных биомишеней свидетельствуют о том, что соединение АЛМ-802, как минимум, сочетает свойства антиаритмических средств I и III классов по классификации Vaughan Williams.

In vitro анализ взаимодействий АЛМ-802 с σ1-рецептором

В отделе фармакологической генетики ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был осуществлен радиолигандный анализ аффинности соединения АЛМ-802 в отношении σ1-рецептора. В качестве радиолиганда использовался [^{3}H]пентазоцин. Было установлено, что в концентрации 10 μM АЛМ-802 связывается с σ1-рецептором на 35%, что свидетельствует о лигандных свойствах этого соединения в отношении к σ1-рецептору. Эти данные также хорошо согласуются с результатами, полученными при конструировании данного класса молекул, согласно которым степень соответствия молекулы АЛМ-802 фармакофорной модели биароматических лигандов σ1-рецептора составляет 52%.

Анализ роли рианодиновых RyR2-рецепторов в кардиопротекторных свойствах АЛМ-802

Рианодиновый рецептор RyR2 играет важную роль в нормальном функционировании сердечно-сосудистой системы. Эта биомишень, как было описано выше, также входит в перечень распространенных мишеней биароматических кардиопротекторов. В связи с этим, было проведено исследование по анализу роли рианодиновых RyR2-рецепторов в кардиопротекторных свойствах АЛМ-802. Оно было проведено в соавторстве с лабораторией фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и ФГБУН «Институт биофизики клетки» РАН [540].

В экспериментах на культуре изолированных нейронов гиппокампа крыс было установлено, что соединение АЛМ-802 в концентрации 69.8 мкМ существенно уменьшало амплитуду Ca^{2+}-ответа, вызванного добавлением в среду хлорида калия. Так как ранее было установлено отсутствие взаимодействия АЛМ-802 с потенциал-зависимым кальциевым каналом, было сделано предположение, что уменьшение Ca^{2+}-ответа под действием АЛМ-802 при деполяризации мембраны обусловлено ингибированием Ca^{2+}-выброса из саркоплазматического ретикулума через RyR2-рецептор.

Это предположение подтвердилось в серии экспериментов, проведенных на изолированных полосках миокарда крыс, в которых анализировалось влияние АЛМ-802 на активность RyR2-рецепторов [540]. Установлено, что соединение АЛМ-802 в концентрации 10 мкМ практически полностью блокирует положительную инотропную реакцию полоски на агонист RyR2 кофеин (50 мкМ). Полученные данные свидетельствуют о том, что вызванное соединением АЛМ-802 снижение концентрации в клетке ионов Ca^{2+} обусловлено его способностью блокировать расположенные на мембране саркоплазматического ретикулума RyR2, чем может быть обусловлен один из

компонентов антиаритмической активности соединения. Следует отметить, что полученные данные имеют хорошее соответствие с результатами расчетов по показателю PhaseScore, согласно которым степень соответствия АЛМ-802 фармакофорной модели лигандов RyR2-рецепторов составляет 51.2%.

Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиотропного действия соединения АЛМ-802

В совместном исследовании лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» в эксперименте на крысах со сформировавшейся хронической постинфарктной сердечной недостаточностью были изучены механизмы, лежащие в основе кардиопротективной активности соединения АЛМ-802 [541]. Методом ПЦР в реальном времени показано, что у опытных крыс соединение АЛМ-802 при ежедневном в/б введении в дозе 2 мг/кг в течение 28 сут, с 91-х суток от момента воспроизведения инфаркта миокарда, восстанавливает в миокарде экспрессию генов β1- и β2-АР, а также рианодиновых рецепторов 2-го типа, сниженную у контрольных животных. Возможно, такой эффект может лежать в основе способности соединения АЛМ-802 уменьшать интенсивность ремоделирования левого желудочка сердца и увеличивать его инотропную функцию.

2.3.6. Доклиническая разработка АЛМ-802 в качестве средства, сочетающего антиаритмическое и антиишемическое действие

Соединение АЛМ-802 в настоящее время проходит цикл доклинической разработки в профильных подразделениях ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». В таблице 32 кратко суммированы имеющиеся на сегодняшний день результаты этих исследований. Для активной фармацевтической субстанции АЛМ-802 полностью завершены исследования специфической антиаритмической и антиишемической активности (выполнены в отделе фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»). В дополнение к основной активности для АЛМ-802 установлена также анксиолитическая, анальгетическая и актопротекторная активность (исследования выполнены в том же отделе и в отделе токсикологии). Выполнена большая часть исследований фармакокинетики АФС АЛМ-802 (отдел фармакокинетики), начаты исследования токсикологии этого соединения (лаборатория фармакологии кровообращения, отдел токсикологии). Также в настоящее время в

лаборатории технологии лекарственных препаратов ведется разработка готовой лекарственной формы АЛМ-802.

Таблица 32. Пройденные этапы доклинической разработки соединения АЛМ-802 в качестве потенциального антиаритмического и антиишемического средства

Специфическая активность ГИЖ-298 (исследования выполнены в отделе фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Модель аконитиновой аритмии	Показана антиаритмическая активность АЛМ-802 в дозах от 0.5 до 5.0 мг/кг (однократное в/в введение, белые беспородные крысы)
Модель хлоридкальциевой аритмии	Показана антиаритмическая активность АЛМ-802 в дозах 1.0-2.0 мг/кг (однократное в/в введение, белые беспородные крысы)
Модель хлоридбариевой аритмии	Показана антиаритмическая активность АЛМ-802 в дозе 2.0 мг/кг (однократное в/в введение, белые беспородные крысы)
Модель субэндокардиальной изопротереноловой ишемии	Показана антиишемическая активность АЛМ-802 в дозах 1.0-2.0 мг/кг (однократное в/в введение, белые беспородные крысы) [542, 543]
Модель субэндокардиальной изопротереноловой ишемии у животных с эндотелиальной дисфункцией	Показана антиишемическая активность АЛМ-802 в дозе 2.0 мг/кг (однократное в/в введение, белые беспородные крысы с эндотелиальной дисфункцией) [542, 543]
Модель добутаминовой ишемии	Показана антиишемическая активность АЛМ-802 в дозе 2.0 мг/кг (однократное в/в введение, белые беспородные крысы) [544]
Модель хронической сердечной недостаточности	АЛМ-802 (2.0 мг/кг, в/б, ежедневно в течение 28 суток) проявляет кардиопротективную активность: уменьшает размеры левого желудочка сердца и увеличивает его инотропную функцию [545]
Дополнительные положительные эффекты АЛМ-802 (исследования выполнены в лаборатории фармакологии кровообращения и в отделе токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Актопротекторная активность АЛМ-802	Установлена способность АЛМ-802 (2.0 мг/кг, в/б) восстанавливать физическую работоспособность белых б/п мышей после острого утомления, которое достигалось за счет принудительного бега мышей по беговой дорожке [546]
Анксиолитическая активность АЛМ-802	Установлена анксиолитическая активность АЛМ-802 в дозах от 1.0 до 8.0 мг/кг (в/б, мыши Balb/C) в модели ПКЛ. В дозе 2.0 мг/кг при в/б хроническом введении АЛМ-802 купировал индуцированный отменой этанола анксиогенез у алкоголь-предпочитающих крыс [547, 548]
Анальгетическая активность АЛМ-802	У мышей C57Bl/6 АЛМ-802 в дозах от 2.0 до 8.0 мг/кг (в/б) демонстрировал антиноцицептивную

	активность при термической стимуляции ноцицепторов в тесте «горячая пластина» и при моделировании висцеральной боли в тесте «уксусные корчи» [547, 548].
Оценка возможных побочных эффектов АЛМ-802 (исследования выполнены в лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Оценка риска проаритмического действия	Установлено, что в дозе 2.0 мг/кг (в/в) АЛМ-802 не увеличивает интервал QT на ЭКГ (беспородные белые крысы)
Оценка влияния на артериальное и венозное давление	Установлено, что в дозе 2.0 мг/кг (в/в) АЛМ-802 не оказывает существенного влияния на артериальное и венозное давление (беспородные белые крысы)
Оценка токсичности АЛМ-802 (исследования выполнены в лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Острая токсичность у беспородных мышей самцов массой 18-25 г	$ЛД_{50}$ = 118 мг/кг (в/б введение) [524]
Острая токсичность у беспородных белых крыс	$ЛД_{50}$ = 119 мг/кг (в/б введение)
Острая токсичность у беспородных белых мышей	$ЛД_{50}$ = 1692 мг/кг (п/о введение)
Острая токсичность у беспородных белых крыс	$ЛД_{50}$ = 2476 мг/кг (п/о введение)
Фармакокинетика АЛМ-802 (исследования выполнены в фармакокинетическом отделе ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»)	
Методика количественного определения АЛМ-802 в плазме крови	Разработана и валидирована селективная и чувствительная ВЭЖХ-МС методика количественного определения АЛМ-802 в плазме крови крыс [549]
Фармакокинетика АЛМ-802 после однократного в/в введения в дозе 10 мг/кг (беспородные белые крысы)	АЛМ-802 определяется в плазме крови на протяжении 12 ч. Кажущаяся начальная концентрация (C_0) АЛМ-802 в плазме крови крыс составила 15428 нг/мл. Период полуэлиминации ($t_{1/2el}$) составил 3.2 ч. Величина кажущегося объёма распределения (Vd) ГИЖ-298 после в/в введения составила 4.36 л/кг [549].
Фармакокинетика АЛМ-802 после однократного в/ж введения в дозе 100 мг/кг (беспородные белые крысы)	Период полувыведения АЛМ-802 из плазмы крови составил 2.6 ч. Тканевая доступность АЛМ-802 падает в ряду: почки-печень-сердце-селезёнка-скелетная мышца-головной мозг ($f_т$: 129.3; 27.2; 20.9; 15.3; 5.9 и 0.3, соответственно) [550]. Абсолютная биодоступность соединения АЛМ-802 составила 4.5% [549].
Метаболизм АЛМ-802	Установлено, что среди метаболитов препарата имеется дезметильное производное АЛМ-802 (m/z

	450.3), дидезметильное производное (m/z 436.3), моно- или бис-сульфатные производные (m/z 530.3 и 596.3), моно- или бис-глюкуронидные производные (m/z 642.3 и 820.3), а также сульфатное или глюкуронидное дезметильные производные (m/z 516.3 и 628.3) [551]

2.3.6.1. Разработка лабораторного регламента получения фармацевтической субстанции АЛМ-802

Для разработки лабораторного регламента получения АЛМ-802 на первом этапе были сопоставлены два варианта реакции восстановительного аминирования в процессе синтеза этого вещества: первый вариант – восстановление путем каталитического гидрирования на палладиевом катализаторе (10% Pd на угле); второй вариант – восстановление действием боргидрида натрия (схема 30). Первый путь синтеза позволил получить целевой продукт АЛМ-802 с общим выходом в 61%, в то время как при использовании боргидрида натрия общий выход синтетической схемы составил 44%, в связи с чем для разработки лабораторного регламента был выбран первый вариант.

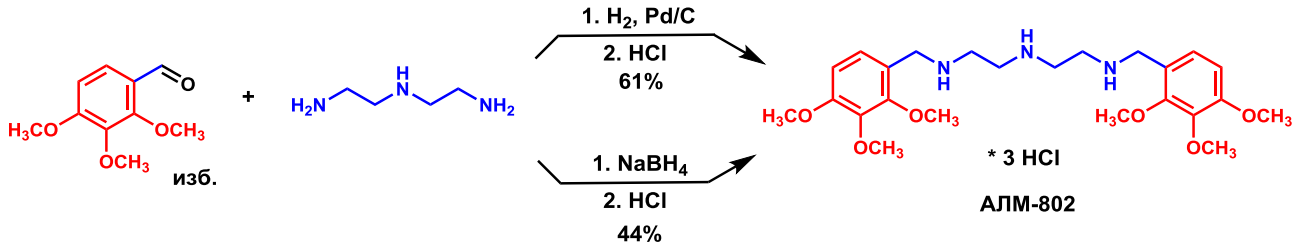


Схема 30. Различные варианты восстановительного аминирования при синтезе АЛМ-802

Лабораторный регламент на производство фармацевтической субстанции АЛМ-802 разработан и оформлен в соответствии с ОСТом 64-02-003-2002 и ГОСТ 52550-2006.

Лабораторный регламент включает в себя 3 основных стадии технологического процесса (ТП.1.-ТП.3.) (схема 31):

ТП.1. Получение N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)-амино] этил}-1,2-этандиамина (АЛМ-802(основание)).

ТП.2. Получение неочищенного тригидрохлорида N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамна моногидрата (АЛМ-802).

ТП.3. Получение фармацевтической субстанции тригидрохлорида N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этан-диамина моногидрата (АЛМ-802).

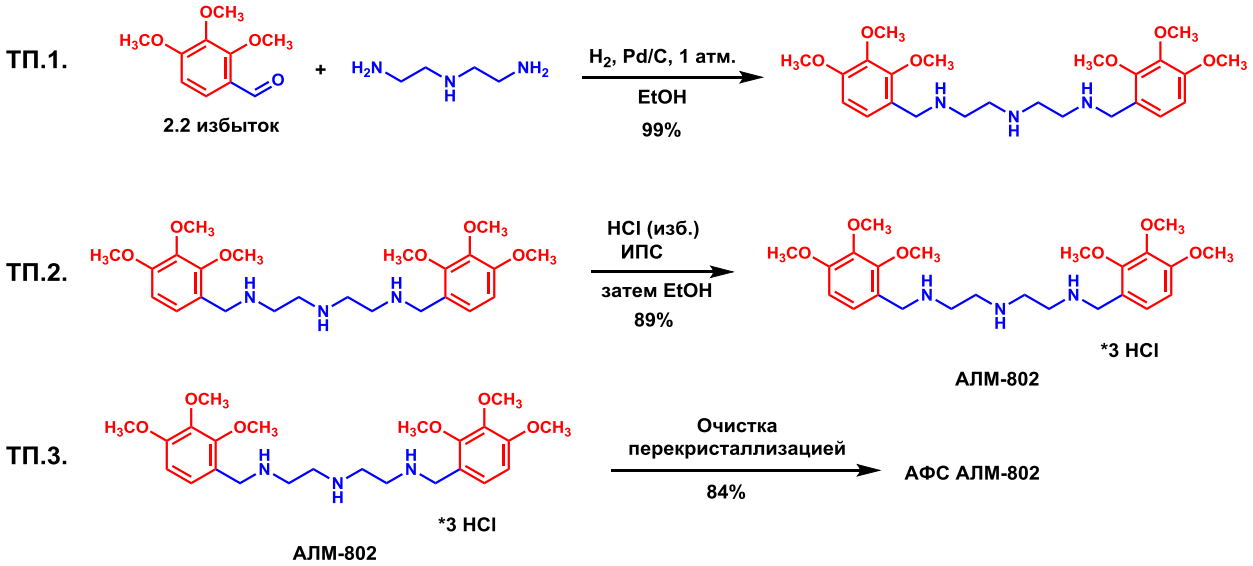


Схема 31. Стадии технологического процесса получения фармацевтической субстанции АЛМ-802.

Описание стадий технологического процесса (ТП.1.-ТП.3.) приведено в экспериментальной части (раздел 3.1.3.14). С использованием лабораторного регламента было наработано необходимое количество серий препарата АЛМ-802 в количествах от 40 до 250 г. Для контроля производства разработана методика контроля качества и определения родственных примесей в субстанции АЛМ-802 [552].

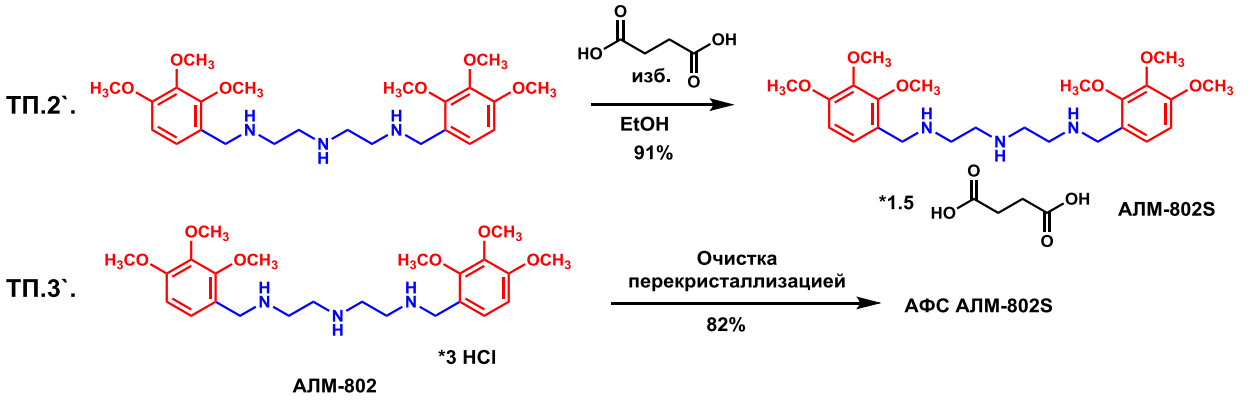


Схема 32. Стадии технологического процесса (ТП.2`. и ТП.3`. получения фармацевтической субстанции АЛМ-802S.

В связи с тем, что в процессе доклинической разработки соединения АЛМ-802 было принято решение перейти другой соли – сукцинату (АЛМ-802S), соответствующим образом был изменен лабораторный регламент, а именно, стадии ТП.2. и ТП.3. (схема 32):

ТП.2`. Получение неочищенного сукцината N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамна моногидрата (АЛМ-802S)

ТП.3`. Получение фармацевтической субстанции сукцината N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этан-диамина моногидрата (АЛМ-802S)

Описание стадий технологического процесса (ТП.2`.-ТП.3`.) приведено в экспериментальной части (раздел 3.1.3.14).

С использованием лабораторного регламента было наработано необходимое количество серий препарата АЛМ-802S в количествах от 20 до 100 г.

2.3.7. Выводы по разработке потенциального кардиотропного средства на основе гипотезы биароматических мультитаргетных кардиопротекторов

В результате проведенного исследования нами была выдвинута рабочая гипотеза о возможности создания кардиопротекторов биароматической структуры с мультитаргетным механизмом действия. В рамках этой гипотезы нами был осуществлен сбор баз данных биароматических кардиопротекторов, для которых были экспериментально определены характеристики их связывания с соответствующими основными биологическими мишенями (кальциевые каналы L-типа (Cav1.2), натриевые каналы Nav1.5, калиевые hERG- и Kv1.5-каналы, HCN-каналы, β1-АР, рианодиновые RyR2-рецепторы, σ1-рецепторы). Для каждой группы лигандов указанных биомишеней были определены их фармакофорные модели, на основании которых были сконструированы несколько групп бис-алкоксифенилазаалканов с высокой степенью соответствия всем моделям. Предложенные вещества были синтезированы с использованием серии ароматических альдегидов и ди- и триаминов различного строения. В серии моделей аритмии и ишемии, использующихся для оценки веществ с различными механизмами действия, было выявлено большое количество активных соединений, среди которых для дальнейшего развития было отобрано АЛМ-802, показавшее высокую эффективность во всех использованных моделях. Среди биомишеней АЛМ-802 подтверждены следующие: потенциал-зависимые натриевые и калиевые каналы, рианодиновый RyR2-рецептор и σ1-рецептор. Также АЛМ-802 восстанавливает в миокарде экспрессию генов β1- и β2-АР и RyR2-рецепторов, сниженную у животных с инфарктом миокарда. Эти данные подтвердили гипотезу о мультитаргетности соединений сконструированных групп.

Была осуществлена разработка лабораторного регламента получения АЛМ-802 в виде двух различных солей с целью проведения расширенных доклинических исследований. АЛМ-802 оказалось эффективным в модели хронической сердечной недостаточности, а также обладало анксиолитическими, анальгетическими и актопротекторными свойствами.

Глава 3. Экспериментальная часть

3.1. Синтетические методы, физико-химические свойства и спектральные характеристики соединений

При проведении синтезов использовались реагенты компаний Alfa Aesar, Sigma-Aldrich, TCI, Merck или других коммерческих поставщиков в предоставленном виде, если не указано иное. Растворители, реагенты, конечные продукты подвергались очистке/осушке в соответствии с принятыми лабораторными правилами. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) выполняли на стеклянных силикагелевых пластинах DC Kieselgel 60 G/F_{254} (Merck, Германия) с обнаружением в УФ-свете или в парах йода.

Температуру плавления соединений определяли на приборе Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, США) в открытых капиллярах без корректировки. Строение целевых и промежуточных соединений устанавливали методами одномерной ^{1}H- ,^{13}C- и двумерной (COSY – гомоядерная корреляция, HSQC – гетероядерная одноквантовая корреляция) ЯМР-спектроскопии. Спектры ^{1}H- и ^{13}C-ЯМР регистрировали в шкале δ, м.д. на спектрометре Fourier 300 HD (Bruker Corporation, Германия; 300 и 75 МГц для ядер ^{1}H- и ^{13}C соответственно) в растворах DMSO-d_6, $CDCl_3$, D_2O внутренний стандарт тетраметилсилан (0 м.д.) и сигналы остаточных протонов растворителей (δ 2.50 для DMSO-d_6 и 7.25 м.д. для $CDCl_3$). Константа спин-спинового взаимодействия *J*, Гц. Для обозначения резонансных сигналов использовали следующие сокращения: с – синглет, д – дублет, т – триплет, кв – квартет, м – мультиплет. ИК-спектры синтезированных соединений снимали на спектрометре Bruker Vertex 70 (ПО – OPUS 5.5), в таблетках KBr (1 мг вещества на 10 мг KBr). Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) записывали на масс-спектрометре «Bruker micrOTOF II».

3.1.1. Синтез лигандов TSPO

3.1.1.1. Морфолинфенилметанон (2.1.6)

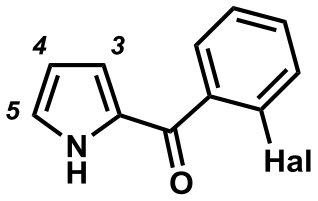
27.02 г (192 ммоль) бензоилхлорида по каплям добавляют к раствору 18.52 г (213 ммоль) морфолина и 24.43 (241 ммоль) триэтиламина в 150 мл дихлорметана при перемешивании при комнатной температуре. Реакционную массу перемешивают 60 минут при комнатной температуре, после чего к ней добавляют 200 мл 5%-ной соляной кислоты, смесь перемешивают, органический слой отделяют, промывают 150 мл воды и профильтровывают через бумажный фильтр. Фильтрат упаривают досуха, остаток перекристаллизовывают из смеси 50 мл этилацетата и 50 мл гексана, получая 34 г белого

кристаллического вещества (выход 91%). Т.пл. 74-75°С Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 3.39-3.65 (уш. м, 8 H, морфолин); 7.34-7.35 (м, 5 H, Ph)

3.1.1.2. Фенил(2*H*-пиррол-2-ил)метанон (2.1.2a)

Смесь 61.64 г (402 ммоль) хлорокиси фосфора и 46.2 г (216 ммоль) морфолинфенилметанона перемешивают в течение 5 часов в атмосфере азота при комнатной температуре, после чего к ней добавляют раствор 10.21 г (152 ммоль) пиррола в 600 мл дихлорэтана при перемешивании. Полученный раствор перемешивают в течение 12 часов при комнатной температуре, после чего к нему осторожно добавляют раствор 110 г поташа в 100 мл воды и перемешивают. Органический слой отделяют, два раза промывают по 200 мл воды, упаривают досуха, остаток хроматографируют на силикагеле используя в качестве элюента толуол. Элюат упаривают досуха, получая 20 г светло-коричневых кристаллов (выход 80%; лит. [553] 86%). Т. пл. 77-78°С (лит. [553] т.пл. 77.5-78°С). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 6.36 (м, 1 H, H(4)); 6.91 (м, 1 H, H(3)); 7.18 (м, 1 H, H(5)); 7.47-7.96 (м, 5 H, Ph); 10.18 (уш. с, 1 H, NH).

3.1.1.3. Общая методика синтеза пирроло(2-галогенфенил)кетонов (2.1.2b-d)



К свежеприготовленному раствору этилмагнийбромида (45 ммоль) в 20 мл сухого диэтилового эфира по каплями прибавляют раствор 2.9 г (44 ммоль) пиррола в 20 мл сухого диэтилового эфира при кипячении. Реакционную смесь кипятят в течение 30 минут, после чего к ней по каплям при перемешивании прибавляют раствор 52 ммоль арилоилхлорида в 50 мл сухого диэтилового эфира. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение суток, после чего выливают в 100 мл водного насыщенного раствора хлорида аммония. Продукт экстрагируют дихлорметаном (2 раза по 60 мл). Органические растворы промывают 3 раза по 50 мл воды, сушат над безводным сульфатом натрия, упаривают досуха и перегоняют при 1.5 мм рт. ст.

(1*H*-Пиррол-2-ил)(2-фторфенил)метанон (2.1.2b)

Получен из пиррола и хлорангидрида 2-фторбензойной кислоты. Выход 30% (лит. [554] 35%). Бледно-розовые кристаллы. Т.кип. 174-178°С (1.5 мм рт.ст.). Т.пл. 76-78°С (лит. [554] т.пл. 76-78°С). ^{1}H ЯМР ($CDCl_3$, δ, м.д.): 6.31 (м, 1 H, H(4)); 6.76 (м, 1 H, H(3)); 7.13-7.64 (м, 5 H, H(5) и Ar); 9.38 (с, 1 H, NH).

(1*H*-Пиррол-2-ил)(2-хлорфенил)метанон (2.1.2c)

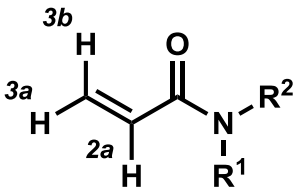
Получен из пиррола и хлорангидрида 2-хлорбензойной кислоты. Выход 31% (лит. [554] 48%). Бледно-розовые кристаллы. Т.кип. 178-182°С (1.5 мм рт. ст.). Т.пл. 92-93°С

(лит. [554] т.пл. 93-94°C).^{1}H ЯМР ($CDCl_3$, δ, м.д.): 6.28 (м, 1 H, H(4)); 6.60 (м, 1 H, H(3)); 7.20 (м, 1 H, H(5)); 7.25-7.60 (м, 4 H, Ar); 10.40 (с, 1 H, NH).

(2-Бромфенил)(1*H*-пиррол-2-ил)метанон (2.1.2d)

Получен из пиррола и хлорангидрида 2-бромбензойной кислоты. Выход 35%. Розовое масло. Т.кип. 180-185°C (1.5 мм рт. ст.). ^{1}H ЯМР ($CDCl_3$, δ, м.д.): 6.29 (м, 1 H, H(4)); 6.68 (м, 1 H, H(3)); 7.20 (м, 1 H, H(5)); 7.25-7.67 (м, 4 H, Ar); 10.29 (с, 1 H, NH).

3.1.1.4. Общая методика синтеза акриламидов 2.1.9



К раствору 150 ммоль амина и 195 ммоль (19.69 г) триэтиламина в 60 мл сухого хлористого метилена при перемешивании прикапывали раствор 150 ммоль (13.58 г) хлорангидрида акриловой кислоты в 40 мл сухого хлористого метилена в течение 30 минут при температуре 5°C, после чего перемешивали реакционную массу в течение часа при комнатной температуре и прибавляли 70 мл воды. Органический раствор отделяли, а водный промыли 60 мл хлористого метилена. Объединенные органические растворы промывали последовательно 50 мл 10%-ной соляной кислоты, 50 мл 5%-ного раствора гидроксида натрия и 50 мл воды, профильтровывали через бумажный фильтр и упаривали досуха, получая целевой продукт.

***N*-бензил-*N*-метилакриламид (2.1.10a)**

Получен из акрилоилхлорида и *N*-метилбензиламина. Светло-желтое масло. Выход 67%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 2.98, 2.99 (два с, 3 H, CH_3); 4.58, 4.67 (два с, 2 H, CH_2); 5.69 (м, 1 H, H(3a)); 6.37 (м, 1 H, H(3b)); 6.59 (м, 1 H, H(2a)); 7.12-7.38 (м, 5 H, Ph).

***N*-бутил-*N*-метилакриламид (2.1.10b)**

Получен из акрилоилхлорида и *N*-метилбутиламина. Светло-желтое масло. Выход 80%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.90 (т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.29 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.51 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 2.95, 3.01 (два с, 3 H, NCH_3); 3.30, 3.39 (два т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 5.62 (м, 1 H, H(3a)); 6.28 (м, 1 H, H(3b)); 6.53 (м, 1 H, H(2a)).

***N*-изобутил-*N*-метилакриламид (2.1.10c)**

Получен из акрилоилхлорида и *N*-метилизобутиламина. Светло-оранжевое масло. Выход 80%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.87, 0.88 (два д, 3 H, $CH(C\underline{H}_3)_2$, ^3J = 6.7); 1.93 (м, 1 H, $C\underline{H}(CH_3)_2$); 2.96, 3.03 (два с, 3 H, NCH_3); 3.13, 3.24 (два д, 2 H, CH_2, ^3J = 7.5); 5.63 (м, 1 H, H(3a)); 6.28 (м, 1 H, H(3b)); 6.53 (м, 1 H, H(2a)).

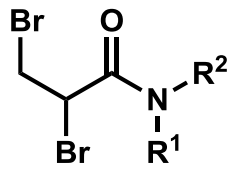
***N*-(*втор*-бутил)-*N*-метилакриламид (2.1.10d)**

Получен из акрилоилхлорида и *N*-метил-*втор*-бутиламина. Желтое масло. Выход 73%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.82 (т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.07, 1.15 (два д, 2 H, $CHC\underline{H}_3$, ^3J = 6.8); 1.47 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 2.78, 2.82 (два с, 3 H, NCH_3); 3.87, 4.67 (два м, 1 H, $C\underline{H}CH_3$); 5.62 (м, 1 H, H(3a)); 6.23 (м, 1 H, H(3b)); 6.56 (м, 1 H, H(2a)).

***N*-фенил-*N*-бутилакриламид (2.1.10e)**

Получен из акрилоилхлорида и *N*-бутиланилина. Светло-жёлтое масло. Выход 91%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д. *J*/Гц): 0.87 (т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.31 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.50 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.75 (т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 5.47 (м, 1 H, H(3a)); 5,97 (м, 1 H, H(3b)); 6.35 (м, 1 H, H(2a)); 7.12-7.39 (м, 5 H, Ph).

3.1.1.5. Общая методика синтеза 2,3-дибромпропиониламидов (2.1.11)



К раствору 44 ммоль акриламида (**2.1.10**) в 100 мл сухого хлористого метилена прикапывали 45 ммоль (7.19 г) брома при перемешивании при 0°C в течение 20 минут. Реакционную массу перемешивали при комнатной температуру в течении 2 часов, промывали раствором 5 г $Na_2S_2O_4$ в 60 мл воды и 2 раза по 40 мл воды, профильтровывали через бумажный фильтр и упаривали досуха, получая целевой продукт.

***N*-бензил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамид (2.1.11a)**

Получен из *N*-бензил-*N*-метилакриламида. Желтое масло. Выход 83%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 2.99, 3.02 (два с, 3 H, CH_3); 3.68 (м, 1 H, H(3a)); 4.22 (м, 1 H, H(3b)); 4.38-4.84 (м, 3 H, H(2a), $C\underline{H}_2Ph$); 7.15-7.43 (м, 5 H, Ph).

***N*-бутил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамид (2.1.11b)**

Получен из *N*-бутил-*N*-метилакриламида. Желтое масло. Выход 81%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.91, 0.95 (два т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.33, 1.53 (два м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.62, 3.18 (два м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 2.99, 3.05 (два с, 3 H, NCH_3); 3.42 (м, 2 H, NCH_2); 3.65 (м, 1 H, H(3a)); 4.14 (м, 1 H, H(3b)); 4.62 (м, 1 H, H(2a)).

2,3-дибром-*N*-изобутил- *N*-метилпропанамид (2.1.11c)

Получен из *N*-изобутил-*N*-метилакриламида. Желтое масло. Выход 84%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.33-1.05 (м, 6 H, $CH(C\underline{H}_3)_2$); 2.00 (м, 1 H, $C\underline{H}(CH_3)_2$); 2.99, 3.07 (два с, 3 H, NCH_3); 3.26 (д, CH_2, ^3J = 7.6); 3.66 (м, 1 H, H(3a)); 4.16 (м, 1 H, H(3b)); 4.66 (м, 1 H, H(2a)).

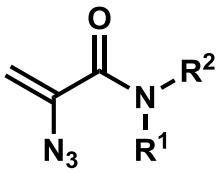
***N*-(*втор*-бутил)-2,3-дибром-*N*-метилпропанамид (2.1.11d)**

Получен из *N*-(*втор*-бутил)-*N*-метилакриламида. Желтое масло. Выход 80%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 0.77-0.95 (м, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$); 1.03-1.24 (м, 2 H, $CHC\underline{H}_3$); 1.39-1,61 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 2.77-2.90 (м, 3 H, NCH_3); 3.59-4.79 (три м, 4 H, $C\underline{H}CH_3$, (3)$C\underline{H}_2$, H(2a)).

***N*-бутил-2,3-дибром-*N*-фенилпропанамид (2.1.11e)**

Получен из *N*-фенил-*N*-бутилакриламида. Светло-жёлтое масло. Выход 92%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д. *J*/Гц): 0.93 (т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.31 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.50 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.47 (м, 1 H, H(3a)): 3.73 (т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 4.10 (м, 1 H, H(3b)); 4.25 (м, 1 H, H(2a)); 7.12-7.38 (м, 5 H, Ph).

3.1.1.6. Общая методика синтеза 2-азидоакриламидов (2.1.3)



К суспензии 44 ммоль (2.86 г) азида натрия в 50 мл сухого ДМФА прибавляли раствор 20 ммоль 2,3-дибромпропиониламида (**2.1.11**) в 30 мл сухого ДМФА при температуре 75°C. Реакционную смесь перемешивали при температуре 75°C в течение 25 минут, после чего охлаждали до комнатной температуры и разбавляли 350 мл воды. Продукт экстрагировали 3 раза по 100 мл диэтилового эфира, объединенные эфирные растворы промывали 80 мл воды, профильтровывали через бумажный фильтр и упаривали досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата и гексана (1:3). Нужные фракции упаривали досуха, получая целевой продукт.

2-азидо-*N*-бензил-*N*-метилакриламид (2.1.3a)

Получен из *N*-бензил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамида. Желтое масло. Выход 78%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 2.90, 2.98 (два с, 3 H, CH_3); 4.62 (с, 2 H, CH_2); 5.08 (м, 2 H, CH_2=); 7.10-7.43 (м, 5 H, Ph)

2-азидо-*N*-бутил-*N*-метилакриламид (2.1.3b)

Получен из *N*-бутил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамида. Светло-желтое масло. Выход 79%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.92 (т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.30 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.55 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 2.94, 3.05 (два с, 3 H, NCH_3); 3.39 (т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.3); 4.95, 5.02 (оба м, по 1 H, CH_2=).

2-азидо-*N*-изобутил-*N*-метилакриламид (2.1.3c)

Получен из *N*-изобутил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамида. Желтое масло. Выход 77%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.64-0.99 (м, 6 H, $CH(C\underline{H}_3)_2$); 1.98 (м, 1 H,

C<u>H</u>(CH_3)$_2$); 2.93, 3.06 (два с, 3 H, NCH_3); 3.23 (д, 2 H, CH_2, ^3J = 7.6); 4.94, 5.03 (оба м, по 1 H, CH_2=).

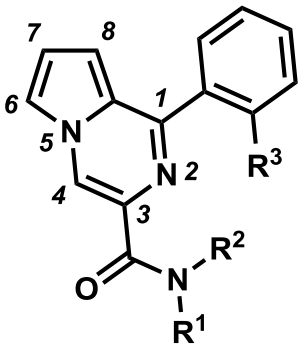
2-азидо-*N*-(*втор*-бутил)-*N*-метилакриламид (2.1.3d)

Получен из *N*-(*втор*-бутил)-2,3-дибром-*N*-метилпропанамида. Светло-желтое масло. Выход 77%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.84 (м, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$); 1.12, 1.17 (два д, 2 H, $CHC\underline{H}_3$, ^3J = 6.6); 1.51 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 2.77, 2.87 (два с, 3 H, NCH_3); 3.94 (м, 1 H, $C\underline{H}CH_3$); 4.92, 5.01 (оба м, по 1 H, CH_2=).

2-азидо-*N*-фенил-*N*-бутилакриламид (2.1.3e)

Получен из *N*-бутил-2,3-дибром-*N*-фенилпропанамида. Желтое масло. Выход 90%. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.93 (т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.31 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.50 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.47 (м, 1 H, H(3a)): 3.73 (т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 4.10 (м, 1 H, H(3b)); 4.25 (м, 1 H, H(2a)); 7.12-7.38 (м, 5 H, Ph).

3.1.1.7. Общая методика синтеза 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов (2.1.1) из (1*H*-пиррол-2-ил)фенилметанонов (2.1.2) и 2-азидоакриламидов (2.1.3)



К раствору 2 ммоль 2-азидоакриламида (2) в 6 мл сухого ДМФА прибавляли 2.2 ммоль (0.72 г) карбоната цезия и 2 ммоль (0.34 г) (1*H*-пиррол-2-ил)фенилметанона (3a), и реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение двух суток. Полученную смесь разбавляли 30 мл воды, и продукт экстрагировали 4 раза по 20 мл этилацетата. Объединенные этилацетатные растворы промывали 20 мл воды, профильтровывали через бумажный фильтр и упаривали досуха. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, используя в качестве элюента смесь этилацетата с гексаном сначала (1:3), затем (2:3). Фракции с продуктом упаривали досуха, остаток (если он был твердый) растворяли в 4 мл этанола и оставляли при -4°C на ночь. Выпавший осадок отфильтровывали, получая целевой продукт.

***N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1a, ГМЛ-1)**

Получен из фенил(2*H*-пиррол-2-ил)метанона и 2-азидо-*N*-бензил-*N*-метилакриламида. Светло-желтые кристаллы. Выход 61%. Т.пл. 101-103°C. Найдено (%): C, 77.63; H, 5.65; N, 12.47. $C_{22}H_{19}N_3O$. Вычислено (%): C, 77.40; H, 5.61; N, 12.31. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 3.06, 3.29 (два с, 3 H, CH_3); 4.76, 5.03 (два с, 2 H, CH_2); 6.73 (м, 1

H, H(8)); 6.95 (м, 1 H, H(7)); 7.26-8.02 (м, 11 H, 2 Ph, H(6)); 8.52 (с, 1 H, H(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3097, 2911 (CH_3, CH_2, CH), 1639 (C=O).

***N*-бензил-*N*-метил-1-(2-фторфенил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1b, ГМЛ-9)**

Получен из (1*H*-пиррол-2-ил)(2-фторфенил)метанона и 2-азидо-*N*-бензил-*N*-метилакриламида. Светло-желтое масло. Выход 69% Найдено (%): C, 73.48; H, 5.26; N, 11.62; F, 5.39. $C_{22}H_{18}FN_3O$. Вычислено (%): C, 73.52; H, 5.05; N, 11.69; F, 5.29. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 3.04, 3.24 (два с, 3 H, CH_3); 4.77, 5.03 (два с, 2 H, CH_2); 6.73 (м, 1 H, H(8)); 6.95 (м, 1 H, H(7)); 7.08-7.74 (м, 10 H, Ar, Ph, H(6)); 8.53 (с, 1 H, H(4)).

***N*-бензил-*N*-метил-1-(2-хлорфенил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1c, ГМЛ-10)**

Получен из (1*H*-пиррол-2-ил)(2-хлорфенил)метанона и 2-азидо-*N*-бензил-*N*-метилакриламида. Светло-желтое масло. Выход 61% Найдено (%): C, 70.18; H, 4.77; N, 11.31; Cl, 9.44. $C_{22}H_{18}ClN_3O$. Вычислено (%): C, 70.30; H, 4.83; N, 11.18; Cl, 9.43. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 3.02, 3.22 (два с, 3 H, CH_3); 4.75, 5.04 (два с, 2 H, CH_2); 6.54 (м, 1 H, H(8)); 6.93 (м, 1 H, H(7)); 7.17-7.61 (м, 10 H, Ar, Ph, H(6)); 8.52 (с, 1 H, H(4)).

***N*-бутил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1d, ГМЛ-3)**

Получен из фенил(2*H*-пиррол-2-ил)метанона и 2-азидо-*N*-бутил-*N*-метилакриламида. Светло-желтые кристаллы. Выход 57%. Т.пл. 85-87°C. Найдено (%): C, 74.21; H, 6.70; N, 13.50. $C_{19}H_{21}N_3O$. Вычислено (%): C, 74.24; H, 6.89; N, 13.67. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.81, 0.97 (два т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.19, 1.39 (два м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.67 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.11, 3.32 (два с, 3 H, NCH_3); 3.54, 3.69 (два т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 6.90-7.05 (м, 2 H, H(7), H(8)); 7.40-8.05 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.41 (с, 1 H, H(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3101, 2956, 2873 (CH_3, CH_2, CH), 1621 (C=O).

***N*-бутил-*N*-метил-1-(2-фторфенил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1e, ГМЛ-4).**

Получен из (1*H*-пиррол-2-ил)(2-фторфенил)метанона и 2-азидо-*N*-бутил-*N*-метилакриламида. Светло-желтые кристаллы. Выход 54%. Т.пл. 91-93°C. Найдено (%): C, 70.21; H, 6.00; N, 12.92; F, 5.87. $C_{19}H_{20}FN_3O$. Вычислено (%): C, 70.13; H, 6.20; N, 12.91; F, 5.84. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.78, 0.96 (два т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.18, 1.38 (два м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.64 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.09, 3.27 (два с, 3 H, NCH_3); 3.52, 3.68 (два т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 6.70, 6.72 (два м, 1 H, H(8)); 6.94, 6.96 (два м, 1 H, H(7));

7.16-7.71 (м, 5 H, Ar, H(6)); 8.44 (с, 1 H, H(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3064, 2953, 2870 (CH_3, CH_2, CH), 1624 (C=O).

***N*-бутил-*N*-метил-1-(2-хлорфенил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1f, ГМЛ-2).**

Получен из (1*H*-пиррол-2-ил)(2-хлорфенил)метанона и 2-азидо-*N*-бутил-*N*-метилакриламида. Светло-желтые кристаллы. Выход 50%. Т.пл. 61-63°C. Найдено (%): C, 66.46; H, 5.84; N, 12.59; Cl, 10.28. $C_{19}H_{20}N_3Ocl$. Вычислено (%): C, 66.76; H, 5.90; N, 12.29; Cl, 10.37. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.76, 0.95 (два т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.16, 1.38 (два м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.60 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.08, 3.25 (два с, 3 H, NCH_3); 3.50, 3.69 (два т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 6.50, 6.52 (два м, 1 H, H(8)); 6.91, 6.92 (два м, 1 H, H(7)); 7.32-7.58 (м, 5 H, Ar, H(6)); 8.42 (с, 1 H, H(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3062, 2948, 2867 (CH_3, CH_2, CH), 1639 (C=O).

***N*-бутил-1-(2-бромфенил)-*N*-метилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1g, ГМЛ-5)**

Получен из (1*H*-пиррол-2-ил)(2-бромфенил)метанона и 2-азидо-*N*-бутил-*N*-метилакриламида. Белые кристаллы. Выход 66%. Т.пл. 57-59°C. Найдено (%): C, 58.88; H, 5.20; N, 10.93; Br, 20.57. $C_{19}H_{20}BrN_3O$. Вычислено (%): C, 59.08; H, 5.22; N, 10.88; Br, 20.68. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.76, 0.95 (два т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.18, 1.39 (два м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.62 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.08, 3.26 (два с, 3 H, NCH_3); 3.50, 3.70 (два т, 2 H, NCH_2, ^3J = 7.4); 6.48, 6.49 (два м, 1 H, H(8)); 6.92, 6.93 (два м, 1 H, H(7)); 7.24-7.75 (м, 5 H, Ar, H(6)); 8.42 (с, 1 H, H(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3112, 2955, 2870 (CH_3, CH_2, CH), 1624 (C=O).

***N*-изобутил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1h, МЛ-291)**

Получен из фенил(2*H*-пиррол-2-ил)метанона и 2-азидо-*N*-изобутил-*N*-метилакриламида. Светло-желтое масло. Выход 63%. Найдено (%): C, 74.30; H, 6.99; N, 13.50. $C_{19}H_{21}N_3O$. Вычислено (%): C, 74.24; H, 6.89; N, 13.67. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.82, 0.99 (оба д, 6 H, $CH(C\underline{H}_3)_2$, ^3J = 6.6); 2.01, 2.12 (оба м, 1 H, $C\underline{H}(CH_3)_2$); 3.11, 3.31 (два с, 3 H, NCH_3); 3.41, 3.70 (оба д, CH_2, ^3J = 7.6); 6.96 (м, 1 H, H(8)); 6.99 (м, 1 H, H(7)); 7.39-8.03 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.40 (с, 1 H, H(4)).

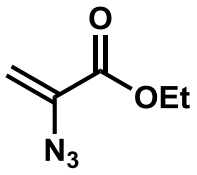
***N*-(*втор*-бутил)-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1i, ГМЛ-6)**

Получен из фенил(2*H*-пиррол-2-ил)метанона и 2-азидо-*N*-(*втор*-бутил)-*N*-метилакриламида. Светло-желтые кристаллы. Выход 68%. Т.пл. 117-119°C. Найдено (%): C, 74.36; H, 7.13; N, 13.80. $C_{19}H_{21}N_3O$. Вычислено (%): C, 74.24; H, 6.89; N, 13.67. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.81, 0.96 (оба т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.22, 1.30 (два д, 2 H, $CHC\underline{H}_3$, ^3J = 6.6); 1.40-1.70 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 2.94, 3.10 (два с, 3 H, NCH_3); 4.38, 4.72 (два м, 1 H, $C\underline{H}CH_3$); 6.95 (м, 1 H, H(8)); 6.99 (м, 1 H, H(7)); 7.46-8.01 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.33 (с, 1 H, H(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3129, 3069, 2960 (CH_3, CH_2, CH), 1621 (C=O).

***N*-бутил-*N*,1-дифенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1j, ГМЛ-23).**

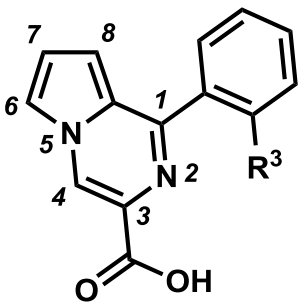
Получен из фенил(2*H*-пиррол-2-ил)метанона и 2-азидо-*N*-фенил-*N*-бутилакриламида. Белые кристаллы с желтоватым оттенком. Выход 80%. Т. пл. 110-113°C. Найдено (%): C, 78,95; H, 6,40; N, 10,35. $C_{24}H_{23}N_3O$. Вычислено (%): C, 78,02; H, 6,27; N, 11,37; O, 4,33 Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.93 (т, 3 H, $CH_2C\underline{H}_3$, ^3J = 7.3); 1.38 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$); 1.66 (м, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_3$); 3.98 (м, 2 H, $NC\underline{H}_2$); 6.90 (м, 1 H, H(8)); 6.94 (м, 1 H, H(7)); 7.18-7.55 (м, 11 H, 2 Ph, H(6)); 8.56 (с, 1 H, H(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3441 (CON), 3076, 2955, 2870 (CH_3, CH_2-CH_2-CH_2), 1619 (C=O).

3.1.1.8. Этиловый эфир 2-азидоакриловой кислоты (2.1.12)



К суспензии 44 ммоль (2.86 г) азида натрия в 50 мл сухого ДМФА прибавляют раствор 20 ммоль этилового эфира 2,3-дибромпропановой кислоты в 30 мл сухого ДМФА при температуре 60°C. Реакционную смесь перемешивают при температуре 60°C в течение 60 минут, после чего охлаждают до комнатной температуры и разбавляют 100 мл воды. Продукт экстрагируют 3 раза по 100 мл гексана, объединенные органические растворы промывают 80 мл воды, профильтровывают через бумажный фильтр и упаривают досуха при 35°C. К остатку добавляют раствор 10 ммоль (1.5 г) DBU в 50 мл толуола, и смесь перемешивают в течение 40 минут при комнатной температуре, промывают 2 раза по 50 мл воды, профильтровывают через бумажный фильтр и упаривают досуха, получая 1.42 г продукта в виде желтого масла (выход 45%). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.36 (т, 3 H, CH_3, ^3J = 7.1); 4.31 (кв, 2 H, $C\underline{H}_2CH_3$,^3J = 7.1); 5.35, 5.85 (оба с, по 1 H, CH=).

3.1.1.9. Общая методика получения 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновых кислот (2.1.4)



К раствору 10 ммоль (1.41 г) этилового эфира 2-акриловой кислоты в 15 мл сухого ДМФА прибавляют 11 ммоль (7.92 г) карбоната цезия и 10 ммоль фенил-(2*H*-пиррол-2-ил)метанона (**2.1.2**), и реакционную массу перемешивают при комнатной температуре в течение двух суток. Полученную смесь разбавляют 60 мл воды, и продукт экстрагируют 4 раза по 40 мл эфира. Объединенные эфирные растворы промывают 100 мл воды, профильтровывают через бумажный фильтр и упаривают досуха. К остатку добавляют 70 мл воды, 25 мл этилового спирта и 20 ммоль (0.80 г) едкого натра, смесь кипятят в течение часа, упаривают досуха, и остаток перекристаллизовывают из спирта.

1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновая кислота (2.1.4a)

Получена из фенил(2*H*-пиррол-2-ил)метанона и этилового эфира 2-акриловой кислоты. Светло-желтые кристаллы. Выход 54%. Т. пл. 155-157°C. Найдено (%): C, 70.52; H, 4.36; N, 11.86. $C_{14}H_{10}N_2O_2$. Вычислено (%): C, 70.58; H, 4.23; N, 11.76. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 7.08 (м, 1 H, H(8)); 7.14 (м, 1 H, H(7)); 7.51-8.03 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.80 (с, 1 H, H(4)); 11.5 (уш. с, 1 H, COOH). ИК-спектр (KBr), ν/см-1: 3496, 3142, 1627 (OH, CH, (C=O)).

1-(2-хлорфенил)пиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновая кислота (2.1.4b)

Получена из (1*H*-пиррол-2-ил)(2-хлорфенил)метанона и этилового эфира 2-акриловой кислоты. Желтые кристаллы. Выход 45%. Т. пл. 173-175°C. Найдено (%): C, 61.84; H, 3.22; N, 10.22; Cl, 13.04. $C_{14}H_9ClN_2O_2$. Вычислено (%):C, 61.67; H, 3.33; N, 10.27; Cl, 13.00. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 6.48 (м, 1 H, H(8)); 7.04 (м, 1 H, H(7)); 7.45-7.70 (м, 5 H, Ph, H(6)); 8.80 (с, 1 H, H(4)); 11.5 (уш. с, 1 H, COOH). ИК-спектр (KBr), ν/см-1: 3496, 3142, 1627 (OH, CH, (C=O)).

3.1.1.10. Общая методика синтеза 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов (2.1.1) из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты (2.1.4) и аминов с использованием фосфорилхлорида

К раствору 4.4 ммоль (1.1 г) 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты (**2.1.4**) в 40 мл дихлорметана, приливают 57 ммоль (0,9 г) $POCl_3$, 5 мл триэтиламина и добавляют 1 каплю ДМФА. Смесь перемешивают 25 мин, после чего к ней прибавляют 5.7 ммоль аминосодержащего соединения, и смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь разбавляют 40 мл воды, подкисляют до кислой реакции и экстрагируют 40 мл, 30 мл и 30 мл дихлорметана, объединенные органические растворы упаривают досуха. Остаток перекристаллизовывают из этанола.

***N*-бутил-*N*-метил-1-(2-хлорфенил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1a, ГМЛ-1).**

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-a]пиразин-3-карбоновой кислоты и *N*-метилбензиламина. Выход 45%. Соединение идентично с полученным по другому методу.

***N*-бензил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1k, ГМЛ-7)**

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-a]пиразин-3-карбоновой кислоты и бензиламина. Желтые кристаллы. Выход 53%. Т.пл. 173-175°С. Найдено (%): С, 77.31; Н, 5.27; N, 13.15. $C_{21}H_{17}N_3O$. Вычислено (%): С, 77.04; Н, 5.23; N, 12.84. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 4.71 (д, 2 Н, CH_2, ^3J = 6.2); 6.98 (м, 1 Н, Н(8)); 7.01 (м, 1 Н, Н(7)); 7.25-7.99 (м, 11 Н, 2 Ph, Н(6)); 8.35 (т, 1 Н, NH, ^3J = 6.2); 8.77 (с, 1 Н, Н(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3256 (NH), 3064, 2920 (CH_2, CH), 1644 (C=O).

***N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1l, ГМЛ-8)**

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-a]пиразин-3-карбоновой кислоты и метиламина. Светло-розовые кристаллы. Выход 45%. Т.пл. 167-169°С. Найдено (%): С, 71.86; Н, 5.22; N, 16.90. $C_{15}H_{13}N_3O$. Вычислено (%): С, 71.70; Н, 5.21; N, 16.72. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д.): 3.03, 3.05 (два с, 3 Н, CH_3); 6.95 (м, 1 Н, Н(8)); 7.00 (м, 1 Н, Н(7)); 7.49-8.02 (м, 7 Н, Ph, Н(6), NH); 8.73 (с, 1 Н, Н(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3383 (NH), 3127, 3081, 2926 (CH_3, CH), 1651 (C=O).

***N*-бутил-*N*-метил-1-(2-хлорфенил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1f, ГМЛ-2).**

Получен из 1-(2-хлорфенил)пиролло[1,2-a]пиразин-3-карбоновой кислоты и *N*-метилбутиламина. Выход 54%. Соединение идентично с полученным по другому методу.

3.1.1.11. Общая методика синтеза 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов (2.1.1) из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты (2.1.4) и аминов с использованием дициклогексикарбодиимида

Раствор 2.2 ммоль (0.2 г) аминосодержащего соединения, 2.0 ммоль (0.48 г) 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты (**2.1.4**) и 2.2 ммоль (0.30 г) 1-гидроксибензотриазола в 20 мл хлористого метилена охлаждали до 0°С. К нему добавляли раствор 2.4 ммоль (0.50 г) 1,3-дициклогексилкарбодиимида в 10 мл хлористого метилена, смесь перемешивали при 0°С в течение 30 мин. Выпавший осадок отфильтровывали, фильтрат промывали 2 раза по 20 мл воды, сушили сульфатом натрия и

упаривали досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата и гексана (1 : 1). Нужные фракции собирали и упаривали досуха, остаток перекристализовывали из этанола.

_N_-метил-_N_,1-дифенилпирроло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1m, ГМЛ-21).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоновой кислоты и _N_-метиланилина. Светло-розовые кристаллы. Выход 67%. Т. пл. 167-169°С. Найдено (%): С, 76.86; Н, 5.22; N, 11.90. $C_{21}H_{17}N_3O$. Вычислено (%): С, 77.04; Н, 5.23; N, 12.84. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д.): 3.57, 3.56 (два с, 3 Н, CH_3); 6.91 (м, 1 Н, Н(8)); 6.95 (м, 1 Н, Н(7)); 7.49-7.57 (м, 8 Н, Ph, Н(6), NH); 8.58 (с, 1 Н, Н(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$:3073 (CON), 1626 (С=О).

_N_-этил-_N_,1-дифенилпирроло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1n, ГМЛ-22).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоновой кислоты и _N_-этиланилина. Белые кристаллы с желтоватым оттенком. Выход 75%. Т. пл. 125-127°С. Найдено (%): С, 76.85; Н, 5.68; N, 12.25. $C_{22}H_{19}N_3O$. Вычислено (%): С, 77.40; Н, 5.61; N, 12.31. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д., _J_/Гц): 1.27 (т, 3 Н, CH_3, ^3J = 7.1); 4.05 (кв, 2 Н, CH_2, ^3J = 7.1); 6.90 (м, 1 Н, Н(8)); 6.95 (м, 1 Н, Н(7)); 7.19-7.55 (м, 11 Н, 2 Ph, Н(6)); 8.56 (с, 1 Н, Н(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3436 (CON), 3067, 2926 (CH_3, CH), 1630 (С=О).

_N_-бензил-_N_,1-дифенилпирроло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1o, ГМЛ-11).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоновой кислоты и _N_-бензиланилина. Белые кристаллы с желтоватым оттенком. Выход 81%. Т. пл. 75-76°С Найдено (%): С, 80.10; Н, 4.46; N, 11.89. $C_{27}H_{23}N_3O$. Вычислено (%): С, 80.37; Н, 5.25; N, 10.41. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д., _J_/Гц): 5.21 (с, 2 Н, CH_2); 6.90 (д, 1 Н, Н(8), ^3J = 4.0); 6.95 (д.д, 1 Н, Н(7), ^3J = 4.0, ^3J = 2.6); 7.10-7.56 (м, 16 Н, 3 Ph, Н(6)); 8.61 (с, 1 Н, Н(4)). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3447 (CON), 3060 (CH), 1630 (С=О).

_N_,1-дифенилпирроло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1p, ГМЛ-24).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-_a_]пиразин-3-карбоновой кислоты и анилина. Светло-желтые кристаллы. Выход 70%. Т. пл. 198-200°С Найдено (%): С, 76.60; Н, 4.95; N, 13.30. $C_{27}H_{23}N_3O$. Вычислено (%): С, 76.66; Н, 4.82; N, 13.41. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д., _J_/Гц): 7.05 (д, 1 Н, Н(8), ^3J = 3.6); 7.16 (д.д, 1 Н, Н(7), ^3J = 3.6, ^3J = 2.8); 7.27-8.04 (м, 11 Н, 2 Ph, Н(6)); 8.86 (с, 1 Н, Н(4)); 9.99 (с, 1 Н, NH). ИК-спектр (KBr), ν/см$^{-1}$: 3330 (CONH), 1675 (С=О).

1-Фенил-*N*,*N*-дипропилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (2.1.1q, ГМЛ-12).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-а]пиразин-3-карбоновой кислоты и дипропиламина. Светло-желтые кристаллы. Выход 70%. Т. пл. 104–106°С. Найдено (%): С, 74.88; Н, 7.22; N, 12.90. $C_{20}H_{23}N_3O$. Вычислено (%): С, 74.74; Н, 7.21; N, 13.07. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 0.82, 1.00 (два т, по 3 Н, 2 CH_3, *J* = 6.9); 1.76 (м, 4 Н, 2 $C\underline{H}_2CH_3$); 3.49, 3.68 (два т, по 2 Н, $C\underline{H}_2NC\underline{H}_2$, *J* = 7.3); 6.97 (м, 1 Н, Н(8)); 7.00 (м, 1 Н, Н(7)); 7.49–7.59 (м, 4 Н, 3 PhH, Н(6)); 7.96–8.03 (м, 2 Н, 2 PhH); 8.45 (с, 1 Н, Н(4)).

***N*-Бензил-*N*-этил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид (2.1.1r, ГМЛ-101).**

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и *N*-этилбензиламина. Бледно-серый порошок. Выход 80%. Т. пл. 116–118°С. Найдено (%): С, 76.83; Н, 6.12; N, 11.98. $C_{23}H_{21}N_3O$. Вычислено (%): С, 77.72; Н, 5.96; N, 11.82. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.27-1.29, (два т, по 3 Н, 2 CH_3, ^3J = 7.1); 3.73 (м, 2 Н, $C\underline{H}_2CH_3$); 4.95 (два с, 2 Н, $C\underline{H}_2Ph$); 6.98 (м, 1 Н, Н(8)); 7.01 (м, 1 Н, Н(7)); 7.27–8.01 (м, 11 Н, 2 PhH, Н(6)); 8.54 (с, 1 Н, Н(4)).

***N*-Бензгидрил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид (2.1.1s, ГМЛ-102).**

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и бензгидриламина. Желто-серые игольчатые кристаллы. Выход 85%. Т. пл. 150–152°С. Найдено (%): С, 80.67; Н, 5.63; N, 10.26. $C_{27}H_{21}N_3O$. Вычислено (%): С, 80.37; Н, 5.25; N, 10.41. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 6.53 (м, 1 Н, $C\underline{H}Ph_2$, ^3J = 8.7); 7.00 (м, 1 Н, Н(8)); 7.04 (м, 1 Н, Н(7)); 7.27–8.02 (м, 16 Н, 3 PhH, Н(6)); 8.73 (д, 1 Н, NH, ^3J = 8.7); 8.78 (м, 1 Н, Н(4)).

***N,N*-Дибензил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид (2.1.1t, ГМЛ-103).**

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и дибензиламина. Желтый порошок. Выход 70%. Т. пл. 115–116°С. Найдено (%): С, 80.52; Н, 5.23; N, 10.12. $C_{28}H_{23}N_3O$. Вычислено (%): С, 80.55; Н, 5.55; N, 10.06. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д.): 4.74-5.17 (м, 4 Н, 2 CH_2); 6.99 (м, 1 Н, Н(8)); 7.02 (м, 1 Н, Н(7)); 7.36–7.93 (м, 16 Н, 3 Ph, Н(6)); 8.64 (с, 1 Н, Н(4)).

1-Фенил-*N*-(3,4-диметоксифенилэтил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид (2.1.1u, ГМЛ-104).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и 3,4-диметоксифенилэтиламина. Светло-желтый порошок. Выход 90%. Т. пл. 160–163°C. Найдено (%): C, 71.85; H, 5.68; N, 10.52. $C_{24}H_{23}N_3O_3$. Вычислено (%): C, 71.80; H, 5.77; N, 10.47. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 2.91 (т, 2 H, $C\underline{H}_2Ar$, ^3J = 7.0); 3.74 (м, 2 H, $NHC\underline{H}_2$) 3.81 и 3.89 (два с, по 3 H, 2 CH_3); 6.80-6.84 (м, 3 H, ArH); 6.99 (м, 1 H, H(8)); 7.04 (м, 1 H, H(7)); 7.27–7.95 (м, 11 H, 2 Ph, H(6)); 8.15 (т, 1 H, NH, ^3J = 7.0); 8.75 (с, 1 H, H(4)).

1-Фенил-*N*-(3,4,5-триметоксибензил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид (2.1.1v, ГМЛ-105).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и 3,4,5-триметоксибензиламина. Светло-желтый порошок. Выход 80%. Т. пл. 180–183°C. Найдено (%): C, 69.27; H, 5.72; N, 10.19. $C_{24}H_{23}N_3O_4$. Вычислено (%): C, 69.05; H, 5.55; N, 10.07. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 3.85 и 3.87 (оба с, 3 H и 6 H, 3 CH_3); 4.65 (д, 2 H, CH_2, ^3J = 6.2); 6.62 (м, 2 H, ArH); 7.02 (м, 1 H, H(8)); 7.04 (м, 1 H, H(7)); 7.27–7.99 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.37 (т, 1 H, NH, ^3J = 6.2); 8.81 (с, 1 H, H(4)).

Метиловый эфир *L*-3-фенил-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид)пропановой кислоты (2.1.1w, ГМЛ-106).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и метилового эфира *L*-фенилаланина. Карамельные кристаллы. Выход 85%. Т. пл. 120–121°C. Найдено (%): C, 72.12; H, 5.42; N, 10.56. $C_{24}H_{21}N_3O_3$. Вычислено (%): C, 72.17; H, 5.30; N, 10.52. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 3.27 (м, 2 H, CH_2); 3.75 (с, 3 H, OCH_3); 5.10 (м, 1 H, CH); 6.99 (м, 1 H, H(8)); 7.06 (м, 1 H, H(7)); 7.55–7.95 (м, 11 H, 2 Ph, H(6)); 8.44 (м, 1 H, NH); 8.71 (с, 1 H, H(4)).

Азепан-1-ил(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-ил)метанон (2.1.1x, ГМЛ-107).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и азепана. Карамельные кристаллы. Выход 85%. Т. пл. 92–93°C. Найдено (%): C, 75.35; H, 6.72; N, 13.12. $C_{20}H_{21}N_3O$. Вычислено (%): C, 75.21; H, 6.63; N, 13.16. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 1.65 (м, 4 H, 2 $NCH_2CH_2C\underline{H}_2$); 1.86 (м, 4 H, 2 $NCH_2C\underline{H}_2$); 3.71-3.86 (м, 4 H, 2 $NC\underline{H}_2$); 6.97 (м, 1 H, H(8)); 6.99 (м, 1 H, H(7)); 7.52–7.97 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.4 (с, 1 H, H(4)).

Диэтиловый эфир *L*-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамидо)пентандионовой кислоты (2.1.1y, ГМЛ-108).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и диэтилового эфира *L*-глутаминовой кислоты. Карамельные кристаллы. Выход 65%. Т. пл. 59–60°C. Найдено (%): C, 65.30; H, 5.98; N, 9.83. $C_{23}H_{25}N_3O_5$. Вычислено (%): C, 65.24; H, 5.95; N, 9.92. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.21 и 1.33 (оба т, по 3 H, 2 CH_3, *J* = 7.1); 2.00–2.53 (м, 4 H, CH_2CH_2); 4.10 и 4.26 (оба кв, 4 H, 2 CH_2CH_3, *J* = 7.1); 4.88 (м, 1 H, NHCH); 7.00–7.06 (м, 2 H, H(8), H(7)); 7.55–8.08 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.57 (д, 1 H, NH, *J* = 8.5); 8.75 (с, 1 H, H(4)).

Диэтиловый эфир L-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамидо)бутандионовой кислоты (2.1.1z, ГМЛ-109).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и диэтилового эфира *L*-аспарагиновой кислоты. Желтые кристаллы. Выход 78%. Т. пл. 42–43°C. Найдено (%): C, 64.30; H, 5.74; N, 10.13. $C_{22}H_{23}N_3O_5$. Вычислено (%): C, 64.54; H, 5.66; N, 10.26. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.24 и 1.31 (оба т, по 3 H, 2 CH_3, *J* = 7.1); 2.98 и 3.14 (оба д.д, по 2 H, $CH_2C(O)$, J_1 = 16.7, J_2 = 4.8); 4.15 и 4.27 (оба кв, 4 H, 2 CH_2CH_3, *J* = 7.1); 5.11 (м, 1 H, CHNH), 6.98-7.08 (м, 2 H, H(8), H(7)); 7.53–8.06 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.75 (с, 1 H, H(4)); 8.87 (д, 1 H, NH, *J* = 8.5).

Метиловый эфир L-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамидо)пропановой кислоты (2.1.1aa, ГМЛ-110).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и метилового эфира *L*-аланина. Желтые кристаллы. Выход 90%. Т. пл. 128–130°C. Найдено (%): C, 66.79; H, 5.74; N, 13.14. $C_{18}H_{17}N_3O_3$. Вычислено (%): C, 66.86; H, 5.30; N, 13.00. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.57 (д, 3 H, $CHCH_3$, *J* = 7.1); 3.80 (с, 3 H, OCH_3); 4.86 (квин, 1 H, CHNH, *J* = 7.1), 7.00-7.06 (м, 2 H, H(8), H(7)); 7.55–8.05 (м, 6 H, Ph, H(6)); 8.47 (д, 1 H, NH, *J* = 7.6); 8.75 (с, 1 H, H(4)).

Этиловый эфир L-3-(1*H*-индол-3-ил)-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамидо)пропановой кислоты (2.1.1ab, ГМЛ-111).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и этилового эфира *L*-триптофана. Желтые кристаллы. Выход 80%. Т. пл. 71–72°C. Найдено (%): C, 71.65; H, 5.74; N, 12.40. $C_{27}H_{24}N_4O_3$. Вычислено (%): C, 71.67; H, 5.35; N, 12.38. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 1.24 (т, 3 H, CH_3, *J* = 7.1); 3.45 (м, 2 H, CH_2CH,); 3.69 (кв, 2 H, CH_2CH_3, *J* = 7.1), 5.16 (м, 2 H, CHNH); 7.01–7.84 (м, 13 H, H(8), H(7), Indole, Ph.); 8.39 (м, 1 H, H(6)); 8.56 (д, 1 H, NH, *J* = 7.9); 8.71 (с, 1 H, H(4)).

Этиловый эфир D-3-(4-гидроксифенил)-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамидо)пропановой кислоты (2.1.1ac, ГМЛ-112).

Получен из 1-фенилпиролло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и этилового эфира *D*-тирозина. Желтые кристаллы. Выход 45%. Т. пл. 174–176°С. Найдено (%): С, 69.95; Н, 5.36; N, 9.75. $C_{25}H_{23}N_3O_4$. Вычислено (%): С, 69.92; Н, 5.40; N, 9.78. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д.): 1.26 (т, 3 Н, CH_3, *J* = 7.1); 3.16 (м, 2 Н, C<u>H</u>$_2$Ph); 3.74 (м, 1 Н, C<u>H</u>N), 4.21 (кв, 2Н, C<u>H</u>$_2$CH$_3$, *J* = 7.1), 6.70–7.90 (м, 12 Н, Н(8), Н(7), Ph, Ar); 8.47 (д, 1 Н, NH, *J* = 8.1); 8.54 (м, 1 Н, Н(6)); 8. 68 (с, 1 Н, Н(4)).

3.1.1.12. Синтез L-3-фенил-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид)пропановой кислоты (2.1.1ad, ГМЛ-113).

Растворяли 8.03 ммоль (3.21 г) метилового эфира *L*-3-фенил-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамид)пропановой кислоты (ГМЛ-106) в смеси этилового и изопропилового спирта, добавляли гидроксид калия в 20 мл воды и кипятили с обратным холодильником 2 ч. Нейтрализовали реакционную смесь лимонной кислотой и экстрагировали хлористым метиленом, затем упаривали досуха на роторном испарителе и перекристаллизовывали из этанола. Выход 1.71 г, 53.3%. Желтые кристаллы. Найдено (%): С, 71.45; Н, 5.16; N, 10.99. $C_{23}H_{19}N_3O_3$. Вычислено (%): С, 71.68; Н, 4.97; N, 10.90. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.23 (м, 2 Н, PhC<u>H</u>$_2$); 4.77 (м, 1 Н, CHNH); 7.06-7.09 (м, 2 Н, Н(7), Н(8)); 7.20–8.05 (м, 11 Н, 2 Ph, Н(6)); 8.46 (д, 1 Н, NH, *J* = 8.3); 8.98 (с, 1 Н, Н(4)).

3.1.1.13. Синтез *N*-бензил-6-бромо-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамида (2.1.1ae, ГМЛ-114).

К раствору 2.93 ммоль (1.0 г) *N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамида (**2.1.1a**) в 50 мл дихлорметана прибавляют 2.95 ммоль 0.52 г *N*-бромсукцинимида и перемешивают при т.к. 60 минут. Далее добавляют 20 мл 10% р-ра тиосульфита натрия, пермешивают и отделяют органический слой и упаривают досуха. Остаток перекристаллизовывают из этилового спирта. Выход 0.78 г, 65 %. Желтые кристаллы Т.пл. 102-103°С. Найдено (%): С, 62.65; Н, 5.35; N, 9.91. $C_{22}H_{18}BrN_3O$. Вычислено (%): С, 62.87; Н, 4.32 N, 10.00. Спектр ЯМР ^{1}Н ($CDCl_3$, δ, м.д.) 2.63, *3.26* (2 с, 3 Н, CH_3); *4.83*, 4.98 (2 с, 2 Н, CH_2); 7.04 (м, 1 Н, Н(8)); 6.95 (м, 1 Н, Н(7)); 7.26–8.02 (м, 10 Н, 2 Ph); 8.52 (с, 1 Н, Н(4)).

3.1.1.14. Синтез *N*-бензил-6-формил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамида (2.1.1af, ГМЛ-115).

Прикапывают 14.65 ммоль (2.25 г) оксихлорида фосфора к 37 мл диметилформамида и перемешивают 30 минут при т.к. Приготавливают раствор 5.86

ммоль (2.0 г) *N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамида (**2.1.1a**) в 50 мл дихлорметана и прибавляют к реактиву Вильсмеера и оставляют на ночь. Далее по каплям добавляют 100 мл 25% раствора карбоната натрия, пермешивают до исчезновения выделения газа, отделяют органический слой и упаривают досуха. Остаток перекристаллизовывают из этилового спирта. Выход 1.73 г, 80 %. Серые кристаллы. Т.пл. 120-123°C. Найдено (%): C, 74.88; H, 5.32; N, 11.39. $C_{23}H_{19}N_3O_2$. Вычислено (%): C, 74.78; H, 5.18; N, 11.37. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.) 3.11, *3.18* (2 с, 3 H, CH_3); 4.86, *4.83* (2 с, 2 H, CH_2); 7.09 (м, 1 H, H(8)); 7.26–7.77 (м, 11 H, H(7) 2 Ph); 7.96 (с, 1 H, H(4)); 10.22 (с, 1 H, HCO).

3.1.1.15. Методики лабораторного регламента на производство фармацевтической субстанции ГМЛ-1

ВР-1. Приготовление 10% раствора соляной кислоты в воде.

В пол литровую коническую колбу помещают 75 мл воды, приливают 23 мл концентрированной соляной кислоты, и перемешивают, затем раствор охлаждают до комнатной температуры.

ВР-2. Приготовление 5% раствора гидроксида натрия в воде.

В пол литровую коническую колбу помещают 2.63 г гидроксида натрия, приливают 50 мл воды и перемешивают до полного растворения гидроксида натрия.

ТП.1. Получение морфолида бензойной кислоты.

В трёхгорлую круглодонную колбу ёмкостью 2 л, снабжённую капельной воронкой с хлоркальциевой трубкой, мешалкой и термометром помещают 33.22 г (0.38 моль) морфолина, 43.95 г (0.34 моль) триэтиламина и 150 мл дихлорметана. При перемешивании и охлаждении[#1] до 0 - 5 °C добавляют 48.94 г (0.34 моль) бензоилхлорида в течении 10-20 мин. По окончании добавления бензоилхлорида смесь перемешивают в течении 0.5 – 1 ч при комнатной температуре. В реакционную массу добавляют 50 мл 10% соляной кислоты (ВР-1) и перемешивают. Органический слой отделяют на делительной воронке. Промывают 50 мл 10% соляной кислоты (ВР-1), затем 50 мл 5% раствором гидроксида натрия (ВР-2) и 50 мл воды. Упаривают раствор досуха. Остаток перекристаллизовывают из смеси этилацетата с гексаном[#2] в соотношении 1 к 1. Получают 59.92 г (90 %) светлых кристаллов морфолида бензойной кислоты[#3].

Примечания:

#1. В качестве охлаждения используют изопропиловый спирт с жидким азотом.

#2. На данное количество полученного вещества используют по 78 мл этилацетата и гексана.

#3. Морфолид бензойной кислоты очень гигроскопичен и перед синтезом пирролфенилкетона, его требуется осушить в эксикаторе с $CaCl_2$ или осушить на роторе с ловушкой, заполненной $CaCl_2$ и запаковать в этой же колбе с герметизацией парафильмом.

ВР-3.Осушка дихлорэтана.

В круглодонную колбу объемом 0.5 л засыпают 10 г оксида фосфора (V), заливают 200 мл дихлорэтана, затем при нагревании на водяной бане отгоняют дихлорэтан[#1].

Примечания:

#1 Первые 20 мл отделяют и присоединяют затем к кубовому остатку.

ВР-4. Приготовление раствора пиррола в сухом дихлорэтане.

В круглодонной колбе объемом 0.5 л приготавливают раствор 15.14 г (0.22 моль) пиррола растворяют в 150 мл сухого дихлорэтана (ВР-3).

ТП.2. Получение пирролфенилкетона.

В трёхгорлую круглодонную колбу, объемом 2 л, снабжённую системой для инертной атмосферы N_2 и мешалкой помещают 59.22 г (0.31 моль) морфолида и 89.05 г (0.58 моль) хлорокиси фосфора. Реактив Вильсмеера перемешивают 5 часов до растворения. Далее раствор 15.14 г (0.22 моль) пиррола в 150 мл сухого дихлорэтана (ВР-4) и прибавляют к реакционной массе. Смесь оставляют на сутки под азотом. Реакционную массу нейтрализуют взвесью 131 г карбоната калия в 300 мл воды, затем промывают два раза 100 мл дистиллированной воды, и упаривают досуха, затем очищают хроматографической колонкой (силикагель Sigma-Aldrich, частицы 130-270 Å, пористость 60 Å. Элюент – толуол 800 мл). Получают 32.20 г (85%) темно-желтых кристаллов, темнеющих на воздухе.

ВР-5. Осушение дихлорметана.

Дихлорметан пропускают через колонку, заполненную оксидом алюминия, затем переливают в круглодонную колбу объемом 2 л и при нагревании на водяной бане отгоняют дихлорметан[#1].

Примечания

#1 Первые 30 мл отделяют и присоединяют затем к кубовому остатку.

ВР-6. Приготовление раствора хлорангидрида акриловой кислоты в сухом дихлорметане.

В плоскодонной колбе на 1 л готовят раствор 60.65 г (0.65 моль) хлорангидрида акриловой кислоты в 250 мл сухого дихлорметана.

ВР-7. Приготовление 10% раствора соляной кислоты в воде.

В круглодонную колбу объемом 0.5 л помещают 72 мл концентрированной соляной кислоты, приливают 215 мл дистиллированной воды и перемешивают, затем раствор охлаждают до комнатной температуры.

ВР-8. Приготовление 5% раствора гидроксида натрия в воде.

В круглодонную колбу объемом 0.5 л помещают 15 г NaOH, приливают 217 мл дистиллированной воды и перемешивают до полного растворения NaOH.

ТП.3. Получение *N*-бензил-*N*-метилакриламида

В трёхгорлую колбу, объемом 2 л, снабженную капельной воронкой, хлоркальциевой трубкой, термометром и магнитной мешалкой, помещают 81.2 г (0.65 моль) *N*-метилбензиламина, 81.72 г (0.80 моль) триэтиламина и 250 мл сухого дихлорметана (ВР-5). Перемешивают до полного растворения *N*-метилбензиламина. При перемешивании и охлаждении до 0 - 5 °С [#1] медленно прибавляют раствор 60.65 г (0.65 моль) хлорангидрида акриловой кислоты в 250 мл сухого дихлорметана (ВР-6). По окончании добавления раствора хлорангидрида акриловой кислоты в дихлорметане массу перемешивают при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем добавляют 200 мл воды, отделяют органический слой, водный слой промывают 250 мл дихлорметана. Объединяют органические растворы, промывают последовательно дважды 300 мл 10% раствора соляной кислоты в воде (ВР-7), 300 мл 5% раствора гидроксида натрия в воде (ВР-8) и 250 мл воды. Полученный раствор высушивают над безводным сульфатом натрия и упаривают досуха на вакууме водоструйного насоса. Получают 87 г (76%) *N*-бензил-*N*-метилакриламида в виде маслянистой жидкости с характерным запахом грибов.

Примечания:

#1. В качестве охлаждения используют изопропиловый спирт с жидким азотом.

ВР-9. Приготовление 15% раствора дитионита натрия в воде.

В плоскодонную колбу объемом 1 л помещают 153 г дитионита натрия, приливают 864 мл дистил. воды и перемешивают до полного растворения дитионита натрия.

ТП.4. Получение *N*-бензил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамида.

В трёхгорлую колбу, объемом 2 л, снабженную капельной воронкой, хлоркальциевой трубкой, термометром и магнитной мешалкой, помещают 81.56 г (0.465 моль) *N*-бензил-*N*-метилакриламида и 825 мл дихлорметана, и перемешивают до полного растворения *N*-бензил-*N*-метилакриламида. При перемешивании и охлаждении до 0 - 5°С[#1] медленно прикапывают 112.71 г (0.698 моль) брома. Реакционную массу перемешивают при комнатной температуре в течение двух часов. Затем добавляют 864 мл

15% раствора дитионита натрия в воде (ВР-9), промывают два раза 412 мл воды, отделяют органический слой. Полученный раствор высушивают над безводным сульфатом натрия и упаривают досуха на вакууме водоструйного насоса. Получают 123.2 г (79%) *N*-бензил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамид в виде желтоватых кристаллов с т.пл. 74-76°С.

Примечания:

#1. В качестве охлаждения используют изопропиловый спирт с жидким азотом.

ВР-10. Осушение ДМФА.

В круглодонную колбу объемом 1 л, снабженную обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой, объемом 1 л засыпают 10 г гидрида кальция и заливают 725 мл ДМФА, затем ставят на водяную баню и на вакууме водоструйного насоса (20 мм рт. ст.) кипятят при температуре 90ºС в течении 2 часов. Затем меняют холодильник на прямой и отгоняют ДМФА[#1]

Примечания:

#1 Первые 20 мл отделяют и присоединяют потом к кубовому остатку.

ВР-11. Приготовление раствора бензилметиламида 2,3-дибромпропионовой кислоты в сухом ДМФА.

В плоскодонной колбе на 1 л готовят раствор 106.45 г (0.32 моль) *N*-бензил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамида в 280 мл сухого ДМФА.

ТП.5. Получение *N*-бензил-*N*-метиламида 2-азидоакриловой кислоты.

В трёхгорлую колбу, ёмкостью 2 л, снабженную капельной воронкой, хлоркальциевой трубкой, термометром и магнитной мешалкой, помещают 61.96 г (0.95 моль) азида натрия и 350 мл сухого ДМФА (ВР-10), перемешивают до образования суспензии. Затем нагревают суспензию до 75°С и прибавляют раствор (ВР-11) 106.45 г (0,32 моль) *N*-бензил-2,3-дибром-*N*-метилпропанамида в 280 мл сухого ДМФА. Перемешивают реакционную массу в течение 25 минут при температуре 75 ^{0}С. Охлаждают реакционную массу до комнатной температуры и выливают в дистиллированную воду объемом 2.5 л, отделяют органический слой[#1]. Из водного слоя экстрагируют продукт гексаном объемом 1500 мл[#2]. Объединяют растворы и оставляют сушиться на безводным сульфатом натрия на ночь. Затем фильтруют через бумажный фильтр и упаривают[#3] растворитель досуха. Получают 47.69 г, (69%) темно-жёлтой маслянистой жидкости бензилметиламида 2-азидоакриловой кислоты.

Примечания:

#1 Допустимо оседание капель коричневого цвета.

#2 Продукт экстрагируют 5 раз: на первом этапе 500 мл, потом два раза по 300 мл и два раза по 200 мл.

#3 Температура бани не должна превышать 45^0C.

ВР-12. Осушение ДМФА

В круглодонную колбу объемом 1 л, снабженную обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой, объемом 1 л засыпают 10 г гидрида кальция и заливают 700 мл ДМФА, затем ставят на водяную баню и на вакууме водоструйного насоса кипятят при температуре 90 °C в течении 2 часов. Затем меняют холодильник на прямой и отгоняют ДМФА[#1].

Примечания:

#1 Первые 20 мл отделяют и присоединяют потом к кубовому остатку.

ТП.6. Получение *N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамида (ГМЛ-1).

В одногорлую круглодонную колбу, объемом 1 л, снабженную магнитной мешалкой и хлоркальциевой трубкой, засыпают 32.2 г (0.186 моль) пирролфенилкетона, приливают 300 мл сухого ДМФА (ВР-12), и, дождавшись полного растворения пирролфенилкетона, присыпают 61.25 г (0.188 моль) карбоната цезия, затем приливают раствор 40.5 г (0.176 моль) бензилметиламида-2-азидоакриловой кислоты в 300 мл сухом ДМФА и оставляют при перемешивании и комнатной температуре в течение 48 часов, затем выливают в 2200 мл воды, тщательно перемешивают и отделяют органический слой. Водный слой экстрагируют несколько раз 1200 мл хлористого метилена[#1], экстракты объединяют с органическим слоем, дважды промывают 200 мл дистиллированной воды и сушат 15 часов над безводным сульфатом натрия. После упаривания растворителя досуха получают сырец в виде темно-оранжевого масла. Затем сырец растворяют в 80 мл этанола при нагревании, охлаждают до комнатной температуры[#2] и оставляют на 15 часов в холодильнике. Получают желтые кристаллы, которые отфильтровывают, промывают 20 мл ледяного спирта и сушат в сушильном шкафу при температуре 75 °C. Фильтрат упаривают вдвое[#3], остужают до комнатной температуры и оставляют на 48 часов в холодильнике. Получают желтые кристаллы, которые обрабатываются аналогичным способом. Объединяют кристаллы и получают *N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид с выходом 75%.

Примечания:

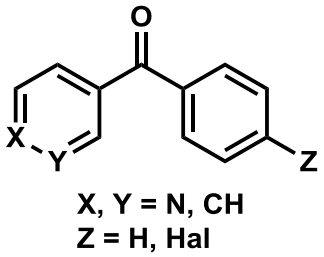
#1 Продукт экстрагируют хлористым метиленом порциями 300+200+200+200 мл (т.е. 4 раза). Первый экстракт темно-оранжевый, остальные светлее до желтого.

#2 Уже при комнатной температуре вероятно осаждение желтых кристаллов.

#3 Полученный после отгонки этанол можно остудить и промыть им кристаллы ГМЛ-1.

3.1.2. Синтез соединение с потенциальной противосудорожной активностью

3.1.2.1. Общая методика получения оксимов бензоилпиридинов (2.2.6)



К раствору 0.3 моль бензоилпиридина в 300 мл этилового спирта при комнатной температуре добавляют раствор 62.54 г (0.9 моль) гидроксиламина солянокислого в 75 мл воды. К смеси при перемешивании прикапывают раствор 30.0 г (0.75 моль) гидроксида натрия в 42 мл воды. Реакционную смесь кипятят при перемешивании 4 ч. Раствор охлаждают до комнатной температуры, оставляют на ночь, выпавший осадок отфильтровывают и промывают большим количеством воды (4*100 мл) и спирта (50 мл). Вещество высушивают на воздухе и перекристаллизовывают из этанола (500 мл).

Оксим 4-бензоилпиридина (Z-изомер) (2.2.6a)

Получен из 4-бензоилпиридина и гидроксиламина. Выход 58%. Т.пл. = 189-190°C, R_f = 0,72 (гексан:EtOAc = 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 7.30 (д, 2 H, 3-H и 5-H (Py); *J* = 4.8); 7.39 (м, 5 H, Ph); 8.69 (д, 2 H, 2-H и 6-H (Py); *J* = 4.8); 11.65 (с, 1 H, NOH).

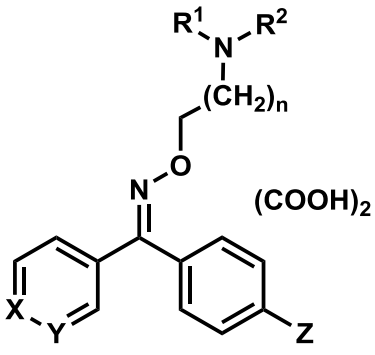
Оксим 3-(4-хлорбензоил)пиридина (смесь Z и E-изомеров 1:1) (2.2.6b)

Получен из 3-(4-хлорбензоил)пиридина и гидроксиламина. Выход 92%. Т.пл. = 145-148°C. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.25-7.48 (м, 5 H, Ar, 5-H (Py)); 7.75 (м, 1 H, 4-H (Py)); 8.57-8.79 (м, 2 H, 2-H и 6-H (Py)); 9.53-9.91 (2 с, 1H, NOH).

Оксим 3-(4-фторбензоил)пиридина (смесь Z и E-изомеров 1:1) (2.2.6c)

Получен из 3-(4-фторбензоил)пиридина и гидроксиламина. Выход 73%. Т.пл. = 146-148°C. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.20-7.60 (м, 6 H, Ar, 4-H и 5-H (Py)); 7.72 (м, 1 H, 6-H (Py)); 8.54 (м, 1 H, 2-H (Py)); 11.63 и 11.74 (2 с, 1 H, NOH).

3.1.2.2. Общая методика получения оксалатов *O*-2-(диалкиламиноалкил)оксимов бензоилпиридинов (2.2.1)



К 0.90 г (22 ммоль) NaH в 7 мл сухого ДМФА прикапывают раствор 11 ммоль оксима бензоилпиридина (**2.2.6**) в 20 мл ДМФА при охлаждении водой (10-15°C), перемешивают 1 ч, добавляют 17 ммоль диалкиламиноалкилхлорида, перемешивают 2 ч при комнатной

температуре, добавляют 220 мл воды, экстрагируют 3 раза этилацетатом (по 40 мл), сушат над $MgSO_4$, упаривают, остаток (в виде масла) растворяют в 5 мл спирта, добавляют 0.9 г щавелевой кислоты в 2 мл спирта, полученный осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола.

Оксалат *O*-2-морфолиноэтилоксима 4-бензоилпиридина (2.2.1a, ГИЖ-298)

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и 2-морфолиноэтилхлорида. Белый порошок. Выход 75%. Т.пл. 154-155°C. Найдено (%):C, 59.77; H, 5.83; N, 10.49. $C_{20}H_{23}N_3O_6$. Вычислено (%): C, 59.84; H, 5.78; N, 10.47. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 2.83 (м, 4 H, CH_2NCH_2 (морф.)); 3.10 (т, 2 H, CH_2N, *J* = 6.0); 3.67 (м, 4 H, CH_2OCH_2 (морф.)); 4.39 (т, 2 H, CH_2O, *J* = 6.0); 7.35 (м, 2 H, 3- и 5-H Py); 7.37-7.51 (м, 5 H, ArH); 8.71 (м, 2 H, 2- и 6-H (Py)); 5.10 уср. (HDO и $(COOH)_2$). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

Оксалат *O*-2-(диметиламино)этилоксима 4-бензоилпиридина (2.2.1b, ГИЖ-164)

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и 2-(диметиламино)этилхлорида. Белый порошок. Выход 64%. Т.пл. 164-165°C. Найдено (%): C, 56.20; H, 5.40; N, 10.30. $C_{16}H_{19}N_3O \cdot 1{,}5H_2C_2O_4$. Вычислено (%): C, 56.43; H, 5.48; N, 10.39. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 2.71 (с, 6 H, $N(CH_3)_2$); 3.42 (т, 2 H, CH_2N, *J* = 6.0); 4.48 (т, 2 H, OCH_2, *J* = 6.0); 7.37 и 7.45; 8.61 и 8.71 (все м, 4 H, Py), 7.39-7.52 (м, 5 H, ArH). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 85:15.

Оксалат *O*-3-(диметиламино)пропилоксима 4-бензоилпиридина (2.2.1c, ГИЖ-162)

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и 3-(диметиламино)пропилхлорида. Белый порошок. Выход 76%. Т.пл. 152-153°C. Найдено (%): C, 61.38; H, 6.15; N, 11.24. $C_{19}H_{23}N_3O_5$. Вычислено (%): C, 61.12; H, 6.21; N, 11.25. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 2.73 (с, 6 H, $N(CH_3)_2$); 2.08 (м, 2 H, $CH_2C\underline{H}_2CH_2$); 3.04 (т, 2 H, NCH_2, *J* = 6.0); 4.18 (т, 2 H, OCH_2, *J* = 6.0); 7.35 и 8.72 (м, 4 H, Py), 7.42 (м, 5 H, ArH), 6.92 уср.(HDO и $(COOH)_2$). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

Оксалат *O*-2-морфолиноэтилоксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина (2.2.1d, ГИЖ-301)

Получен из оксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина и 2-морфолиноэтилхлорида. Белый порошок. Выход 47%. Т.пл. 177-178°C. Найдено (%): C, 55.20; H, 5.10; Cl, 8.11; N, 9.49. $C_{20}H_{22}ClN_3O_6$. Вычислено (%): C, 55.11; H, 5.09; Cl, 8.13; N, 9.64. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 2.92 (м, 4 H, CH_2NCH_2 (морф.)); 3.21 (м, 2 H, NCH_2); 3.70 (м, 4 H, CH_2OCH_2

(морф.)); 4.44 (м, 2 H, OCH_2, под HDO); 7.40-7.79 (м, 4 H, ArH); 8.56-8.66 (м, 4 H, 2-H, 4-H, 5-H, 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

Оксалат *O*-2-(пиперидин-1-ил)этилоксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина (2.2.1e, ГИЖ-313)

Получен из оксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина и 2-(пиперидин-1-ил)этилхлорида. Белый порошок. Выход 89%. Т.пл. 125-127°C. Найдено (%): C, 57.94; H, 5.80; Cl, 8.18; N, 9.55. $C_{21}H_{24}ClN_3O_5$. Вычислено (%): C, 58.13; H, 5.58; Cl, 8.17; N, 9.68. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.45 (м, 6 H, $(CH_2)_3$ цикла); 3.05 (м, 4 H, CH_2NCH_2 цикла); 3.36 (т, 2 H, NCH_2, *J* = 6.0); 4.49 (м, 2 H, CH_2); 7.40-7.90 (м, 6 H, 4-H и 5-H (Py), Ar); 8.50-8.70 (м, 2 H, 2-H, 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

Оксалат *O*-2-(диметиламино)этилоксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина (2.2.1f, ГИЖ-252)

Получен из оксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина и 2-(диметиламино)этилхлорида. Белый порошок. Выход 78%. Т.пл. 154-155°C. Найдено (%): C, 55.11; H, 4.87; Cl, 8.89; N, 10.75. $C_{18}H_{20}ClN_3O_5$. Вычислено (%): C, 54.90; H, 5.12; Cl, 9.00; N, 10.67. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 2.71 и 2.73 (с, 3 H, $N(CH_3)_2$); 3.43 (м, 2 H, CH_2); 4.49 (м, 2 H, CH_2); 4.70 (уср. HDO и COOH); 7.40-7.60 (м, 5 H, 5-H (Py), Ar); 7.76-7.82 (м, 1 H, 4-H (Py)); 8.52-8.70 (м, 2 H, 2-H, 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 70:30.

Оксалат *O*-2-морфолиноэтилоксима 3-(4-фторбензоил)пиридина (2.2.1g, ГИЖ-292)

Получен из оксима 3-(4-фторбензоил)пиридина и 2-морфолиноэтилхлорида. Белый порошок. Выход 32%. Т.пл. 145-146°C. Найдено (%): C, 57.25; H, 5.19; N, 10.33. $C_{20}H_{22}FN_3O_6$. Вычислено (%): C, 57.28; H, 5.29; N, 10.02. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 3.18 (м, 4 H, CH_2NCH_2 (морф.)); 3.48 (м, 2 H, NCH_2); 3.77 и 4.00 (м, 4 H, CH_2OCH_2 (морф.)); 4.49 (м, 2 H, OCH_2); 7.25-7.65 (м, 6 H, Ar, 4-H и 5-H (Py)); 8.50-8.70 (м, 2 H, 2-H и 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

Оксалат *O*-2-(пиперидин-1-ил)этилоксима 3-(4-фторбензоил)пиридина (2.2.1h, ГИЖ-297)

Получен из оксима 3-(4-фторбензоил)пиридина и 2-(пиперидин-1-ил)этилхлорида. Белый порошок. Выход 71%. Т.пл. 152-153°C. Найдено (%): C, 60.33; H, 5.90; N, 10.31. $C_{21}H_{24}FN_3O_5$. Вычислено (%): C, 60.42; H, 5.80; N, 10.07. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 1.47 (м, 2 H, $NCH_2CH_2C\underline{H}_2$); 1.65 (м, 4 H, 2 $NCH_2C\underline{H}_2$); 3.02 (м, 4 H, $2NCH_2$ цикл.);

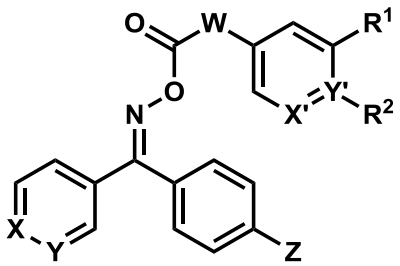
3.32 (м, 2 H, NCH_2); 4.46 (м, 2 H, OCH_2); 7.20-7.85 (м, 6 H, 4-H, 5-H (Py), Ar); 8.55-8.66 (м, 2 H, 2-H и 6-H(Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 65:35.

Оксалат *O*-2-(диметиламино)этилоксима 3-(4-фторбензоил)пиридина (2.2.1i, ГИЖ-179)

Получен из оксима 3-(4-фторбензоил)пиридина и 2-(диметиламино)этилхлорида. Белый порошок. Выход 48%. Т.пл. 136-137°C. Найдено (%): C, 57.11; H, 5.16; N, 11.00. $C_{18}H_{20}FN_3O_5$. Вычислено (%): C, 57.29; H, 5.34; N, 11.14. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 2.73 и 2.75 (с, 6 H, $N(CH_3)_2$); 3.45 и 4.48 (2 м, 4 H, CH_2CH_2); 7.00-7.50 (м, 5 H, Ar, 5-H(Py)); 7.51-8.80 (м, 3 H, 2-H, 4-H и 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 70:30.

3.1.2.3. Общая методика получения *O*-(арилоил)оксимов бензоилпиридинов (2.2.3)

Смесь 5 ммоль оксима бензоилпиридина (**2.2.6**), 6 ммоль хлорангидрида ароматической или арил-содержащей алифатичесокй кислоты и 0.60 г (6 ммоль) сухого триэтиламина в 10 мл сухого бензола или толуола кипятят 2 ч, оставляют на сутки, обрабатывают водой (осадок растворяется), бензольный/толуольный раствор промывают насыщенным раствором $NaHCO_3$, затем водой, сушат над $MgSO_4$, упаривают, масло затирают под петролейным эфиром, продукт кристаллизуют из спирта.



X, Y = N, CH
Z = H, Hal
W = 0, CH_2O, CH=CH
X', Y' = N, CH

***O*-(3,4-дихлорбензоил)оксим 4-бензоилпиридина (2.2.3a, ГИЖ-267)**

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и хлорангидрида 3,4-дихлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 70%. Т.пл. 100-101°C. Найдено (%): C, 61.41; H, 3.44; Cl, 19.31; N, 7.44. $C_{19}H_{12}Cl_2N_2O_2$. Вычислено (%): C, 61.48; H, 3.26; Cl, 19.10; N, 7.55. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.45-7.60 и 7.62-7.85 (м, 10 H, 2 Ar, 3-H и 5-H (Py)); 8.60-8.80 (м, 2 H, 2-H и 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 95:5.

***O*-никотиноилоксим 4-бензоилпиридина (2.2.3b, ГИЖ-323)**

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и хлорангидрида никотиновой кислоты. Белый порошок. Выход 56%. Т.пл. 142-144°C. Найдено (%): C, 71.01; H, 4.51; N, 13.81. $C_{18}H_{13}N_3O_2$. Вычислено (%): C, 71.28; H, 4.32; N, 13.85. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.):

7.30-7.60 и 7.75 (два м, 9 H, Ar, 3-H и 5-H от двух Py); 8.67 и 8.72 (два м, 2 H, 6-H от двух Py); 8.72-8.84 (м, 2 H, 2-H от двух Py). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

***O*-изоникотиноилоксим 4-бензоилпиридина (2.2.3c, ГИЖ-325)**

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и хлорангидрида изоникотиновой кислоты. Белый порошок. Выход 66%. Т.пл. 150-151°C. Найдено (%): C, 71.25; H, 4.42; N, 13.77. $C_{18}H_{13}N_3O_2$. Вычислено (%): C, 71.28; H, 4.32; N, 13.85. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.20-7.45 и 7.45-7.80 (два м, 9 H, Ar, 3-H и 5-H от двух Py); 8.60-8.85 (два м, 4 H, 2-H и 6-H от двух Py). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

***O*-(4-фторбензоил)оксим 4-бензоилпиридина (2.2.3d, ГИЖ-330)**

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и хлорангидрида 4-фторбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 56%. Т.пл. 125-126°C. Найдено (%): C, 71.18; H, 3.87; N, 8.90. $C_{18}H_{13}FN_2O_2$. Вычислено (%): C, 71.24; H, 4.09; N, 8.75. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.30-7.80 (м, 10 H, оба Ar, 3-H и 5-H Py); 8.70-8.80 (м, 2 H, 2-H, 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

***O*-(2-(4-хлорфенокси)ацетил)оксим 4-бензоилпиридина (2.2.3e, ГИЖ-370)**

Получен из оксима 4-бензоилпиридина и хлорангидрида 2-(4-хлорфенокси)уксусной кислоты. Белый порошок. Выход 70%. Т.пл. 99-100°C. Найдено (%): C, 65.67; H, 4.10; Cl, 9.76; N, 7.77. $C_{19}H_{15}ClN_2O_3$. Вычислено (%): C, 65.49; H, 4.12; Cl, 9.66; N, 7.64. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 5.00 (с, 2 H, CH_2); 6.94 и 7.31 (м, 4 H, O-C_6H_4-Cl); 7.51 (м, 5 H, Ph); 7.39 и 8.74 (два м, 4 H, Py). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

***O*-(4-хлорбензоил)оксим 3-(4-хлорбензоил)пиридина (2.2.3f, ГИЖ-309)**

Получен из оксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина и хлорангидрида 4-хлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 43%. Т.пл. 143-145°C. Найдено (%): C, 61.38; H, 3.11; Cl, 19.41; N, 7.52. $C_{19}H_{12}Cl_2N_2O_2$. Вычислено (%): C, 61.48; H, 3.26; Cl, 19.10; N, 7.55. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.45-7.75 (м, 9 H, оба Ar, 5-H (Py)); 8.04 (м, 1 H, 4-H (Py)); 8.65-8.84 (м, 2 H, 2-H и 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 60:40.

***O*-(3,4-дихлорбензоил)оксим 3-(4-хлорбензоил)пиридина (2.2.3g, ГИЖ-311)**

Получен из оксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина и хлорангидрида 3,4-дихлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 51%. Т.пл. 129-130°C. Найдено (%): C, 56.18; H, 2.55; Cl, 26.40; N, 6.82. $C_{19}H_{11}Cl_3N_2O_2$. Вычислено (%): C, 56.26; H, 2.73;

Cl, 26.22; N, 6.91. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.50-7.85 (м, 8 H, оба Ar, 5-H (Py)); 7.90-8.02 (м, 1 H, 4-H (Py)); 8.70-8.82 (м, 2 H, 2-H и 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 60:40.

***O*-никотиноилоксим 3-(4-хлорбензоил)пиридина (2.2.3h, ГИЖ-324)**

Получен из оксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина и хлорангидрида никотиновой кислоты. Белый порошок. Выход 34%. Т.пл. 142-143°C. Найдено (%): C, 63.97; H, 3.44; Cl, 10.59; N, 12.41. $C_{18}H_{12}ClN_3O_2$. Вычислено (%): C, 64.01; H, 3.58; Cl, 10.50; N, 12.44. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.25-7.60 и 7.75 (два м, 8 H, Ar, 4-H и 5-H от двух Py); 8.60-8.80 (м, 3 H, 2-H и 6-H от двух Py); 8.80-8.90 (м, 1 H, 2-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой чистый Z-изомер.

***O*-циннамоилоксим 3-(4-хлорбензоил)пиридина (2.2.3i, ГИЖ-312)**

Получен из оксима 3-(4-хлорбензоил)пиридина и хлорангидрида коричной кислоты. Белый порошок. Выход 53%. Т.пл. 141-142°C. Найдено (%): C, 69.52; H, 4.17; Cl, 9.77; N, 7.72. $C_{21}H_{15}ClN_2O_2$. Вычислено (%): C, 69.52; H, 4.17; Cl, 9.77; N, 7.72. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 6.60-6.64 (м, 1 H, CH=); 7.36-7.77 (м и 2 с, 11 H, 2 ArH, CH=, 5-H (Py)); 7.91 (м, 1 H, 4-H (Py)); 8.62-8.76 (м, 2 H, 2-H и 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 70:30.

***O*-(4-хлорбензоил)оксим 3-(4-фторбензоил)пиридина (2.2.3j, ГИЖ-371)**

Получен из оксима 3-(4-фторбензоил)пиридина и хлорангидрида 4-хлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 34%. Т.пл. 137-139°C. Найдено (%): C, 64.52; H, 3.41; Cl, 9.87; N, 7.91. $C_{19}H_{12}FClN_2O_2$. Вычислено (%): C, 64.33; H, 3.41; Cl, 9.99; N, 7.90. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.30-8.01 (м, 10 H, Ar, 4-H, 5-H (Py)); 8.71-8.78 (м, 2 H, 2-H, 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 60:40.

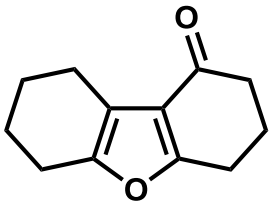
***O*-(3,4-дихлорбензоил)оксим 3-(4-фторбензоил)пиридина (2.2.3k, ГИЖ-277)**

Получен из оксима 3-(4-фторбензоил)пиридина и хлорангидрида 3,4-дихлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 77%. Т.пл. 125-127°C. Найдено (%): C, 58.41; H, 2.99; Cl, 18.18; N, 7.18. $C_{19}H_{11}FCl_2N_2O_2$. Вычислено (%): C, 58.63; H, 2.85; Cl, 18.22; N, 7.20. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 7.37-7.82 (м, 8 H, Ar, 5-H (Py)); 7.90-8.02 (м, 1 H, 4-H (Py)); 8.70-8.82 (м, 2 H, 2-H и 6-H (Py)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 50:50.

***O*-циннамоилоксим 3-(4-фторбензоил)пиридина (2.2.3l, ГИЖ-275)**

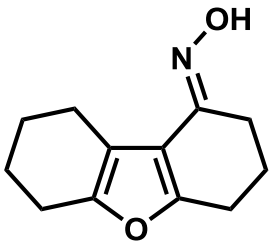
Получен из оксима 3-(4-фторбензоил)пиридина и хлорангидрида коричной кислоты. Белый порошок. Выход 50%. Т.пл. 124-126°С. Найдено (%): С, 72.70; Н, 4.10; N, 8.19. $C_{21}H_{15}FN_2O_2$. Вычислено (%): С, 72.82; Н, 4.37; N, 8.09. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 6.82 (м, 1 Н, CH=); 7.35-8.11 (м и 2 с, 11 Н, Ar и CH=); 7.90 (м, 1 Н, 4-Н (Ру)); 8.62-8.79 (м, 2 Н, 2-Н и 6-Н (Ру)). По данным ЯМР соединение представляет собой смесь Z- и E-изомеров в соотношении 70:30.

3.1.2.4. 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-он (2.2.11)



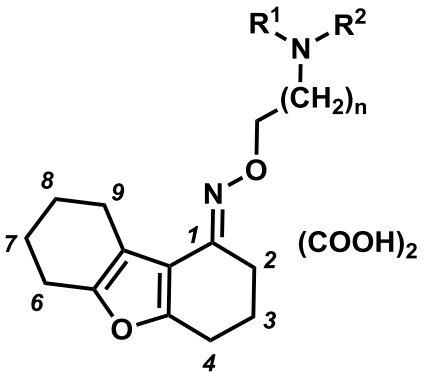
К раствору 20.18 г (180 ммоль) циклогексан-1,3-диона и 21.86 г (216 ммоль) триэтиламина в 150 мл дихлорметана по каплям при перемешивании добавляют раствор 26.25 г (198 ммоль) 2-хлорциклогексанона в 50 мл дихлорметана. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение суток. Затем реакционную смесь промывают дистиллированной водой 3 раза порциями по 50 мл, после чего органический слой сушат над безводным сульфатом натрия и упаривают досуха. Полученную массу перекристаллизовывают из 50% этилового спирта. Получают 20.6 г 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она в виде бесцветных кристаллов (выход 60%). Т.пл. 50-52°С (Т.пл. лит. 50°С [555]).

3.1.2.5. E-Оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.10)



К раствору 9.0 г (47 ммоль) 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (**2.2.11**) в 35 мл спирта добавляют 5.17 г (70 ммоль) гидроксиламина солянокислого в 3.5 мл воды (выпадает осадок), при перемешивании небольшими порциями добавляют 9.47 г (0.236 моля) твердого гидроксида натрия (размельченного). Смесь доводят до кипения, 5 минут кипятят, охлаждают и выливают смесь в 95 мл 10%-ой соляной кислоты при охлаждении водой, отфильтровывают осадок. Получают 8.75 г оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (выход 97%). Т.пл. 192-194°С (спирт). Rf = 0,66 [9,5:0,5 хлф:сп]. Вычислено %: С, 70.21; Н, 7.37; N, 6.82. $C_{12}H_5NO_2$. Найдено %: С, 70.21; Н, 7.37; N, 7.04. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 1.55-1.90, 2.40-2.70 (оба уш. м, 14 Н, кольца); 8.38 (уш.с, 1 Н, NOH).

3.1.2.6. Общая методика получения оксалатов *O*-(аминоалкил)оксимов 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.2)



К 0.4 г (10 ммоль) 60%-ного гидрида натрия в 10 мл сухого ДМФА при охлаждении прикапывают раствор 1.03 г (5 ммоль) оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (**2.2.10**) в 20 мл сухого ДМФА. Полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 часов, добавляя 10 мл сухого ДМФА при выпадении осадка в реакционной смеси. К полученной смеси прикапываются раствор 7.5 ммоль основания аминоалкилгалогенида в 10 мл сухого ДМФА, при необходимости добавляют еще 10 мл ДМФА, и полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 часов, после чего ее выливают в 550 мл воды. Продукт экстрагируют 2 раза по 200 мл этилацетата, объединенные растворы этилацетата сушат над молекулярными ситами 4 Å, упаривают досуха, остаток растворяют в 5 мл этанола. К спиртовому раствору добавляют раствор 0.45 г щавелевой кислоты в 5 мл этанола и 5 мл эфира. Полученную смесь при необходимости разбавляют эфиром, осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола или водного этанола.

Оксалат *O*-(2-морфолиноэтил)оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.2a, ГИЖ-343)

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и 4-(2-хлорэтил)морфолина. Белый порошок. Выход 78%. Т.пл. 218-220°С (из 70% спирта). Rf=0.68 [9,5:0,5 хлф:сп]. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO, δ, м.д., *J*/Гц): 1.65 и 1.74 (два м, 4 H, CH_2-7, CH_2-8); 1.84 (м, 2 H, CH_2-3); 2.48-2.52 (м, 4 H, CH_2-6, CH_2-9); 2.54 и 2.63 (два м, 4 H, CH_2-2, CH_2-4); 2.90 (м, 4 H, 2 $NC\underline{H}_2CH_2O$); 3.06 (т, 2 H, $NOCH_2C\underline{H}_2N$, J^3 = 5.3); 3.71 (м, 4 H, 2 $NCH_2C\underline{H}_2O$); 4.24 (т, 2 H, $NOC\underline{H}_2CH_2N$, J^3 = 5.3).

Оксалат *O*-(3-морфолинопропил)оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.2b, ГИЖ-344)

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и 4-(3-хлорпропил)морфолина. Белый порошок. Выход 81%. Т.пл. 208-210°С (из 70% спирта). Rf=0.62 [9,5:0,5 хлф:сп]. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO, δ, м.д., *J*/Гц): 1.64 и 1.73 (два м, 4 H, CH_2-7, CH_2-8); 1.83 (м, 2 H, CH_2- 3); 1.94 (м, 2 H, $CH_2C\underline{H}_2CH_2N$); 2.43-2.50 (м, 4 H, CH_2-6, CH_2-9); 2.54 и 2.62 (два м, 4 H, CH_2-2, CH_2-4); 2.84-3.01 (м, 6 H, 2 $NC\underline{H}_2CH_2O$, $CH_2CH_2C\underline{H}_2N$); 3.73 (м, 4 H, 2 $NCH_2C\underline{H}_2O$); 4.03 (т, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2CH_2N$, J^3 = 6.1).

Оксалат *O*-(2-(диметиламино)этил)оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.2c, ГИЖ-345)

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и *N,N*-диметил-2-хлорэтан-1-амина. Белый порошок. Выход 60%. Т.пл. 205-207°С (из 70% спирта). Rf=0.23 [9:1 хлф:сп]. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO, δ, м.д., *J*/Гц): 1,65 и 1,74 (два м, 4 H, CH_2-7, CH_2-8); 1,85 (м, 2 H, CH_2- 3); 2,46-2,54 (м, 4 H, CH_2-6, CH_2-9); 2,58 и 2,64 (два м, 4 H, CH_2-2, CH_2-4); 2,75 (с, 6 H, 2 CH_3); 3,29 (т, 2 H, $CH_2C\underline{H}_2N$, J^3 = 5,0); 4,29 (т, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2N$, J^3 = 5,0).

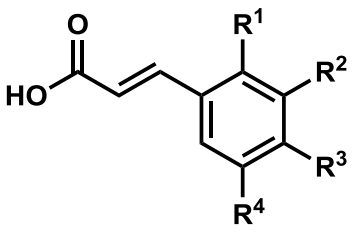
Оксалат *O*-(3-(диметиламино)пропил)оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.2d, ГИЖ-346)

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и *N,N*-диметил-3-хлорпропан-1-амина. Белый порошок. Выход 68%. Т.пл. 223-225°С (из 70% спирта). Rf=0,2 [9:1 хлф:сп]. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO, δ, м.д., *J*/Гц): 1,65 и 1,74 (два м, 4 H, CH_2-7, CH_2-8); 1,84 (м, 2 H, CH_2- 3); 1,98 (м, 2 H, $CH_2C\underline{H}_2CH_2N$); 2,44-2,53 (м, 4 H, CH_2-6, CH_2-9); 2,55 и 2,63 (два м, 4 H, CH_2-2, CH_2-4); 2,72 (с, 6 H, 2 CH_3); 3,06 (м, 2 H, $CH_2C\underline{H}_2N$); 4,04 (т, 2 H, $OC\underline{H}_2CH_2$, J^3 = 6,1).

Оксалат *O*-(2-(диэтиламино)этил)оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.2e, ГИЖ-347)

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и *N,N*-диэтил-2-хлорэтан-1-амина. Белый порошок. Выход 90%. Т.пл. 160-162°С (из спирта). Rf=0.42 [9:1 хлф:сп]. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO, δ, м.д., *J*/Гц): 1.17 (т, 6 H, 2CH_3, J^3 = 7.2); 1.65 и 1.74 (два м, 4 H, CH_2-7, CH_2-8); 1.85 (м, 2 H, CH_2- 3); 2.46-2.54 (м, 4 H, CH_2-6, CH_2-9); 2.57 и 2.64 (два м, 4 H, CH_2-2, CH_2-4); 3.12 (кв, 4 H, 2 $C\underline{H}_2CH_3$, J^3 = 7.2); 3.33 (т, 2 H, $CH_2C\underline{H}_2N$, J^3 = 5.0); 4.31 (т, 2 H, $C\underline{H}_2CH_2N$, J^3 = 5.0).

3.1.2.7. Общая методика получения замещенных коричных кислот (2.2.14)



Замещенный бензальдегид (**2.2.15**) (15 ммоль), малоновую кислоту (3.44 г, 33 ммоль) и пиперидин (0.04 г, 4.5 ммоль) растворяют в 7 мл пиридина. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 8 часов, охлаждают и выливают в 10 мл 10%-ной соляной кислоты. Осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат на воздухе. Выход: 55-80%. Полученные соединения были описаны ранее.

3,4-Метилендиоксикоричная кислота (2.2.14j)

Получена из 3,4-метилендиоксибензальдегида. Выход 55%, т. пл. 242-244°С (лит. [556] т.пл. 245°С).

4-Метилкоричная кислота (2.2.14k)

Получена из 4-метилбензальдегида. Выход 75%, т. пл. 197-199°С (лит. [557] т.пл. 198-199°С).

4- Метоксикоричная кислота (2.2.14l)

Получена из 4-метоксибензальдегида. Выход 70%, т. пл. 157-159°С (лит. [558] т. пл. 158°С).

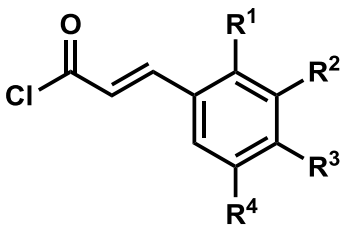
3,4,5-Триметоксикоричная кислота (2.2.14m)

Получена из 3,4,5-триметоксибензальдегида. Выход 78%, т. пл. 110-112°С (лит. [559] т.пл. 110-112°С).

4-Трифторметилкоричная кислота (2.2.14n)

Получена из 4-трифторметилбензальдегида. Выход 80%, т. пл. 231-232°С (лит. [560] т.пл. 231-233°С).

3.1.2.8. Общая методика получения хлорангидридов замещенных коричных кислот (2.2.13)



К 0,15 моля замещенной коричной кислоты (**2.2.14**) добавляют тионилхлорид (55 мл, 0.75 моль) и 1-2 капли ДМФ. Смесь кипятят 4 часа. Избыток тионилхлорида упаривают, остаток растворяют в толуоле (150 мл) и еще раз упаривают для удаления остатков тионилхлорида. Выход: 90-97%. Полученные соединения были описаны ранее.

4-Фторциннамоилхлорид (2.2.13a)

Получен из 4-фторкоричной кислоты. Выход 94%, т.пл. 41-44°С (лит. [561] т.пл. 40-44°С [34]).

2-Фторциннамоилхлорид (2.2.13b)

Получен из 2-фторкоричной кислоты. Выход 95%, светло-желтое масло [562].

3-Фторциннамоилхлорид (2.2.13c)

Получен из 3-фторкоричной кислоты. Выход 96%, светло-желтое масло [562].

3-Хлорциннамоилхлорид (2.2.13d)

Получен из 3-хлоркоричной кислоты. Выход 98%, светло-желтое масло [563].

3-Бромциннамоилхлорид (2.2.13e)

Получен из 3-бромкоричной кислоты. Выход 93%, т.пл. 104-106°С (лит. [564] т.пл. 104-106°С).

3,4-Диметоксициннамоилхлорид (2.2.13f)

Получен из 3,4-диметоксикоричной кислоты. Выход 99%, т.пл. 80-82°С (лит. [565] т.пл. 80-82°С).

4-Хлорциннамоилхлорид (2.2.13g)

Получен из 4-хлоркоричной кислоты. Выход 96%, т.пл. 75°С (лит. [566] т.пл. 72-74°С).

2-Хлорциннамоилхлорид (2.2.13h)

Получен из 2-хлоркоричной кислоты. Выход 95%, светло-желтое масло [567].

3,4-Дихлорциннамоилхлорид (2.2.13i)

Получен из 3,4-дихлоркоричной кислоты. Выход 91%, т.пл. 60°С (лит. [568] т.пл. 59.5-60°С).

3,4-Метилендиоксициннамоилхлорид (2.2.13j)

Получен из 3,4-метилендиоксикоричной кислоты. Выход 96%, т.пл. 200-202°С, (лит. [569] т.пл. 200-201°С).

4-Метилциннамоилхлорид (2.2.13k)

Получен из 4-метилкоричной кислоты. Выход 99%, т.пл. 70-71°С, (лит. [570] т.пл. 70°С).

4-Метоксициннамоилхлорид (2.2.13l)

Получен из 4-метоксикоричной кислоты. Выход 97%, т.пл. 62-64°С, (лит. [571] т.пл. 62-65°С).

3,4,5-Триметоксициннамоилхлорид (2.2.13m)

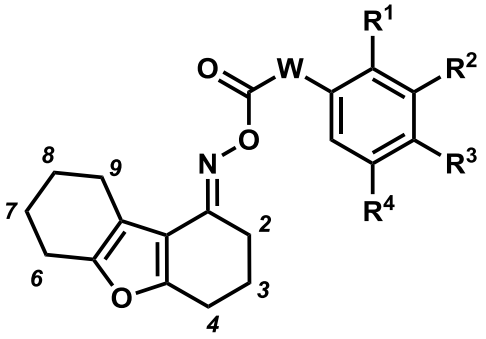
Получен из 3,4,5-триметоксикоричной кислоты. Выход 95%, т.пл. 110-111°С, (лит. [559] т.пл. 110-112°С).

4- Трифторметилциннамоилхлорид (2.2.13n)

Получен из 4-трифторметилкоричной кислоты. Выход 95%, т.пл. 61-62°С, (лит. [572] т.пл. 61-63°С).

3.1.2.9. Общая методика получения *O*-(арилоил)оксимов 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4 и 2.2.5)

К 1.53 г (7.5 ммоль) оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она в 10 мл сухого бензола/толуола добавляют 1.72 г (8.2 ммоль) хлорангидрида арил-содержащей кислоты в присутствии 0.83 г (8.2 ммоль) сухого триэтиламина кипятят 4 часа, отфильтровывают осадок; бензольный раствор упаривают, остаток обрабатывают раствором $NaHCO_3$, твердый осадок отфильтровывают и кристаллизуют из спирта.



W = 0, CH_2O, CH=CH

***O*-(3,4-дихлорбензоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4a, ГИЖ-276)**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3,4-дихлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 88%. Т.пл. 158-159°C. R_f = 0.90 [9,5:0,5 хлф:сп]. Вычислено %: C 60.33; H 4.53; Cl 18.75; N 3.70. $C_{19}H_{17}Cl_2NO_3$ Найдено %: C 60.59; H 4.66; Cl 18.65; N 3.66. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 1.67-1.68 (два м, 4 H, CH_2-7,8); 1.76-1.94 (квинтет, 2 H, CH_2- 3, *J* = 6.2); 2.50-2.53 (два т, 4 H, CH_2-6,9, *J* = 6.2); 2.71 (т, 2 H, CH_2- 4, *J* = 6.2); 2.86 (т, 2 H, CH_2-2, *J* = 6.2); 7.82-7.86 (д, 1 H, CH- 5', *J* = 7.9); 7.95-7.97 (д, 1 H, CH- 6', *J* =8.5); 8,14 (с, 1 H, CH- 2').

***O*-(4-циннамоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4b, ГИЖ-272)**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида коричной кислоты. Белый порошок. Выход 84%. Т.пл. 137-138°C. Rf=0.80 [9,5:0,5 хлф:сп]. Вычислено %: C, 75.19; H, 6.31; N, 4.12. $C_{21}H_{21}NO_3$ Найдено %: C, 75.36; H, 6.48; N, 4.07. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 1.58-2.83 (м, 14 H, $(CH_2)_3$, $(CH_2)_4$ и кольца); 6.79-7.15 (два д, 2 H, CH=CH, *J* = 15.8); 7.45 и 7.15 (оба м, 5 H, ArH).

***O*-(4-хлорбензоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4c, ГИЖ-327)**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-хлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 77%. Т.пл. 150-151°C (из спирта). Rf=0,85 [9,5:0,5 хлф:сп]. Вычислено %: C 66.37; H 5.28; Cl 10.31; N 4.07. $C_{19}H_{18}ClNO_3$ Найдено %: C 66.2; H 5.31; Cl 10.15; N 3.99. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ,

м.д., *J*, Гц): 1.68 и 1.76 (два м, 4 H, CH_2-7,8); 1.94 (м, 2 H, CH_2-3); 2.54 (м, 4 H, CH_2-6,9); 2.71 и 2.84 (м, 4 H, CH_2- 2,4); 7.49 (д, 2 H, CH-3',5', *J* = 8.5); 8.05 (д, 4 H, CH-2',6', *J* = 8.5).

***O*-(4-фторбензоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4d, ГИЖ-328)**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-фторбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 80%. Т.пл. 119-120°C (из спирта). Rf=0.85 [9,5:0,5 хлф:сп]. Rf=0.6 (хлф). Вычислено %: C 69.71; H 5.54; F 5.80; N 4.28. $C_{19}H_{18}FNO_3$ Найдено %: C 69.71; H 5.54; F 5.80; N 4.28. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 1.68 и 1.69 (два м, 4 H, CH_2-7,8); 1.94 (квинтет, 2 H, CH_2- 3, *J* = 6.4); 2.51 (м, 4 H, CH_2-6,9); 2.71 (т, 2 H, CH_2-2, *J* = 6.4); 2.85 (т, 2 H, CH_2-4, *J* = 6.4); 7.39 (м, 2 H, CH-3',5'); 8.08 (м, 2 H, CH-2',6').

***O*-(2-хлорбензоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4e, ГИЖ-332)**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 2-хлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 82%. Т.пл. 123-125°C (из спирта). Rf=0.85 [9,5:0,5 хлф:сп]. Rf=0.6 (хлф). Вычислено %: C 66.37; H 5.28; Cl 10.31; N 4.07. $C_{18}H_{18}ClNO_3$ Найдено %: C 66.24; H 5.33; Cl 10.02; N 4.09. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 1.75 и 1.76 (два м, 4 H, CH_2-7,8); 1.82-1.83 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 и 2.66 (м, 4H, CH_2-6,9); 2.74 и 2.88 (два м, 4 H, CH_2-2,4); 7.39 и 7.41 (два м, 3 H, CH-3',4',5'); 7.89 (м, 1 H, CH-6').

***O*-(3-хлорбензоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4f, ГИЖ-338)**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3-хлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 68%. Т.пл. 168-170°C. Rf=0.8 (хлф). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 1.75 и 1.76 (два м, 4 H, CH_2-7,8); 1.84 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-6); 2.66 и 2.75 (два м, 4 H, CH_2-4,9); 2.88 (м, 2 H, CH_2-2); 7.59 и 7.60 (два м, 2 H, CH-4',5'); 7.99 (м, 2 H, CH-2', 6').

***O*-(2,4-дихлорбензоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она (2.2.4g, ГИЖ-333)**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 2,4-дихлорбензойной кислоты. Белый порошок. Выход 68%. Т.пл. 149-150°C. Вычислено %: C 57.58; H 4.83; Cl 17.89; N 3.53. $C_{19}H_7NO_3Cl_2 \cdot H_2O$ Найдено %: C 57.76; H 4.84; Cl 17.88; N 3.73. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*, Гц): 1.60-1.76 (два м, 4 H,

CH_2-7,8); 1.76-1.85 (м, 2 H, CH_2-3); 2.01 – 2.03 (м, 2H, CH_2-9); 2.58 – 2.7 (м, 4 H, CH_2-2,6); 2.84 (м, 2 H, CH_2-4); 7.34 (м, 1 H, CH-3'); 7.51 (с, 1 H, CH-5'); 7.81-7,84 (д, 1 H, CH-2', J = 6.4).

_O_-(4-хлорфеноксиацетил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[_b,d_]фуран-1(2_H_)-она (2.2.4h, ГИЖ-310)

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-хлорфеноксиуксусной кислоты. Белый порошок. Выход 86%. Т.пл. 117-118°C. Вычислено %: C 64.25; H 5.39; Cl 9.48; N 3.74. $C_{20}H_{20}ClNO_4$ Найдено %: C 64.33; H 5.44; Cl 9.44; N 3.65. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 1.60 (м, 4 H, CH_2-7,8); 1.98 (м, 2 H, CH_2-3); 2.52 (м, 4 H, CH_2-6,9); 2.70-2.80 (м, 4 H, CH_2-2,4); 5.02 (с, 2 H, OCH_2); 7.00-7.46 (м, 5 H, ArH).

_O_-(4-фторфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[_b,d_]фуран-1-(2_H_)-она (2.2.5a, MBS-4).

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-фторкоричной кислоты. Кремовые кристаллы. Выход 79%. Т. пл. 145-147°C. R_f= 0.59 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.75-1.83 (м, 4 H, CH_2-7,8); 2.02 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.7, J^2=12.8); 6.57 (д, 1 H, =CH-CO-, J=16.0); 7.10 (м, 2 H, CH_{Ar}-3',5'); 7.54-7.57 (м, 2 H, CH_{Ar}-2',6'); 7.77 (д, 1 H, Ar-CH=, J=16.0). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.89/22.67/22.79/22.88/23.03/24.20 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 114.12 (C_{9b}), 115.12 (C_{9a}), 115.94 ($C_{2',6'}$), 116.23 (CH-COO), 130.12 ($C_{3',5'}$), 130.77 ($C_{1'}$), 144.18 (Ar-CH=),150.72 (C_1=N), 157.76 (C_{5a}), 160.69 (C_{4a}), 165.02 ($C_{4'}$-F), 165.64 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3285 (R_2C=N-O-R'); 2936 (-CH); 1713 (-COO-); 1635 (R_2C=N-O-R'); 1539 (-HC=CH-, аромат.); 1409 (-C=N-); 1253 (-C-N- амид III); 1187 (=C-F).

_O_-(2-фторфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[_b,d_]фуран-1-(2_H_)-она (2.2.5b, MBS-7).

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 2-фторкоричной кислоты. Белые кристаллы. Выход 76%. Т. пл. 149-151°C. R_f=0.52 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.77-1.83 (м, 4 H, CH_2-7,8); 2.02 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.82 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.3, J^2=12.7); 6.77 (д, 1 H, =CH-CO, J=16.2); 7.19 (м, 2 H, CH_{Ar}-5',6'); 7.38 (м, 1 H, CH_{Ar}-4'); 7.57 (т, 1 H, CH_{Ar}-3', J=7.5); 7.92 (д, 1 H, Ar-CH=, J=16.2). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.88/22.67/22.80/22.88/23.02/24.14 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 114.11 (C_{9b}), 115.13 (C_{9a}), 116.08 ($C_{3'}$), 116.37 (CH-COO), 122.62 ($C_{1'}$), 124.51 ($C_{5'}$), 128.00 ($C_{6'}$), 129.44 ($C_{4'}$),

131.87 (Ar-CH=),138.14 (C_{5a}), 150.65 (C=N), 157.76 (C_{4a}), 160.63 ($C_{2'}$-F), 164.96 (C=O). ИК спектр (KBr, $см^{-1}$): 3282 (R_2C=N-O-R'); 2931 (-CH); 1713 (-COO-); 1653 (R_2C=N-O-R'); 1539 (-HC=CH-, аромат.); 1408 (-C=N-); 1250 (-C-N- амид III); 1186 (=C-F).

***O*-(3-фторфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5c, MBS-8).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3-фторкоричной кислоты. Кремовые кристаллы. Выход 87%. Т. пл. 141-142°C. R_f=0.53 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.77-1.83 (м, 4 H, CH_2-7,8); 2.02 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.82 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.7, J^2=12.9); 6.64 (д, 1 H, =CH-CO, *J*=16.0); 7.08-7.14 (м, 1 H, CH_{Ar}-6'); 7.26-7.43 (м, 3 H, CH_{Ar}-2',4',5); 7.76, 7.85 (два д, 1 H, Ar-CH=, J^1=16, J^2=16). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.90/22.70/22.79/22.87/23.04/24.19 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 114.07 (C_{9b}), 114.16 (C_2'), 114.45 (C_{9a}), 115.12 (C_{5a}), 117.15 (CH-COO), 117.62 ($C_{6'}$), 124.27 ($C_{5'}$), 130.55 ($C_{1'}$), 136.76 (Ar-CH=),144.07 ($C_{4'}$), 150.75 (C=N), 157.84 (C_{4a}), 161.38 ($C_{3'}$-F), 164,78 (C=O). ИК спектр (KBr, $см^{-1}$): 3285 (R_2C=N-O-R'); 2935 (-CH); 1713 (-COO-); 1653 (R_2C=N-O-R'); 1539 (-HC=CH-, аромат.); 1408 (-C=N-); 1254 (-C-N-, амид III); 1186(=C-F-).

***O*-(3-хлорфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5d, MBS-9).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3-хлоркоричной кислоты. Белые кристаллы. Выход 76%. Т. пл. 136-137°C. R_f =0.56 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.75-1.83 (м, 4 H, CH_2-7,8); 2.02 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.7, J^2=12.8); 6.66 (д, 1 H, =CH-CO, *J*=16.0); 7.37-7.43 (м, 3 H, CH_{Ar}-4',5',6'); 7.57 (с, 1 H, CH_{Ar}-2'); 7.74 (д, 1 H, Ar-CH=, *J*=16.0). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.89/22.68/22.79/22.87/23.04/24.18 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 114.08 (C_{9b}), 115.11 (C_{9a}), 117.71 (CH-COO), 126.45 ($C_{2'}$), 127.7 ($C_{6'}$), 130.18 ($C_{4'}$), 130.27 ($C_{5'}$), 134.95 (C_{5a}), 136.29 ($C_{1'}$), 143.81 (Ar-CH=), 150.75 (C=N), 157.84 (C_{4a}), 160.78 ($C_{3'}$-Cl), 164.74 (C=O). ИК спектр (KBr, $см^{-1}$): 3291 (R_2C=N-O-R'); 2936 (-CH); 1713 (-COO-); 1653 (R_2C=N-O-R'); 1539 (-HC=CH-, аромат.); 1436 (-C=N-); 1253 (-C-N- амид III); 1187 (=C-Cl-).

***O*-(4-бромфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5e, MBS-28).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-бромкоричной кислоты. Кремовые кристаллы. Выход 92%. Т. пл. 161-163°C. R_f =0.22 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.72-1.88 (м,

4 H, CH_2-7,8); 2.02 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.8, J^2 =13.0); 6.52, 6.63 (два д, 1 H, =CH-CO-, J = 16.0); 7.42-7.45 (м, 2 H, CH_{Ar}-3',5'); 7.54-7.57 (м, 2 H, CH_{Ar}-2',6'); 7.77 (д, 1 H, Ar-CH=, J = 16.0). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.88/22.68/22.80/22.88/23.02/24.15 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 114.09 (C_{9b}), 115.10 (C_{9a}), 116.93 (CH-C=O), 124.65 ($C_{4'}$-Br), 129.52 ($C_{2',6'}$), 133.39 ($C_{3',5'}$), 133.39 ($C_{1'}$), 143.99 (Ar-CH=), 150.68 (C=N), 157.76 (C_{5a}), 160.66 (C_{4a}), 164.77 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3443 (R_2C=N-O-R'); 2934 (-CH); 1757 (-COO-); 1737 (R_2C=N-O-R'); 1638, 1601 (-HC=CH-, аромат.); 1455 (-C=N-); 1275(-C-N- амид III); 1187(-CH-); 1144(=C-Br-).

***O*-(4-хлорфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5g, ГИЖ-348).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-хлоркоричной кислоты. Белые кристаллы. Выход 54%. Т. пл. 158-159°C. R_f=0,85 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., J/Гц): 1.72-1.89 (м, 4 H, CH_2-7,8), 1.98-2.11 (м, 2 H, CH_2-3), 2.56-2.60 (м, 2 H, CH_2-9), 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4), 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.8, J^2=12.9), 6.62 (д, 1 H, =CH-CO-, J=16.0), 7.37-7.41 (м, 2 H, CH_{Ar}-3',5'), 7.49-7.52 (м, 2 H, CH_{Ar}-2',6'), 7.76 (д, 1 H, *p*-Cl-Ph-CH=, J=16.0). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.89/22.67/22.80/22.88/23.04/24.17 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 114.12 (C_{9b}), 115.19 (C_{9a}), 116.82 (CH-C=O), 129.19 ($C_{4'}$-Cl), 129.31 ($C_{2',6'}$), 133.00 ($C_{3',5'}$), 136.32 ($C_{1'}$), 143.97 (Ar-CH=),150.73 (C=N), 157.77 (C_{5a}), 160.70 (C_{4a}), 164.85 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3442 (R_2C=N-O-R'); 2936 (-CH); 1736 (-COO-); 1639, 1601 (R_2C=N-O-R'); 1493 (-HC=CH-); 1327(-C=N-); 1275 (-C-N- амид III); 1145(=C-Cl-).

***O*-(2-хлорфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5h, ГИЖ-351).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 2-хлоркоричной кислоты. Бесцветные кристаллы. Выход 40%. Т. пл. 140-142°C. R_f=0,76 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., J/Гц): 1.72-1.89 (м, 4 H, CH_2-7,8); 1.98-2.09 (м, 2 H, CH_2-3); 2.57-2.61 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.83 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.8, J^2=12.9); 6.65 (д, 1 H, =CH-CO-, J=16.0); 7.30-7.38 (м, 2 H, CH_{Ar}-5',6'); 7.44-7.47 (м, 1 H, CH_{Ar}-4'); 7.66-7.69 (м, 1 H, CH_{Ar}-3'); 8.22 (д, 1 H, *o*-Cl-Ph-CH=, J=16.0). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.91/22.67/22.79/22.81/22.89/24.17 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 114.13 (C_{9b}), 115.17 (C_{9a}), 119.01 ($C_{3'}$), 127.09 (CH-COO), 127.72 ($C_{1'}$), 130.24 ($C_{5'}$), 131.13 ($C_{6'}$), 132.80 ($C_{4'}$), 135.06 ($C_{2'}$-Cl), 141.18 (Ar-CH=), 150.72 (C=N), 157.77 (C_{5a}), 160.75 (C_{4a}), 164.52 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3453 (R_2C=N-O-R'); 2947 (-CH), 1739 (-

COO-); 1638, 1606 (R_2C=N-O-R'); 1470, 1443 (-HC=CH-); 1311 (-C=N-); 1267 (-C-N- амид III); 1187 (-CH-); 1137 (=C-Cl-).

***O*-(3,4-дихлорфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5i, ГИЖ-352).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3,4-дихлоркоричной кислоты. Бесцветные кристаллы. Выход 48%. Т. пл. 159-162°C. R_f=0,83 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.72-1.89 (м, 4 H, CH_2-7,8); 1.98-2.11 (м, 2 H, CH_2-3); 2.56-2.60 (м, 2 H, CH_2-9); 2.71-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.8, J^2=12.9); 6.64 (д, 1 H, =CH-CO-, *J*=16.0); 7.37-7.41 (м, 1 H, CH_{Ar}-2'); 7.50 (д, 1 H, *J*=8.4, CH_{Ar}-5'); 7.66 (с, 1 H, CH_{Ar}-6'); 7.70 (д, 1 H, Ar-CH=, *J*=16.4). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.88/22.68/22.79/22.87/23.03/24.18 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 129.60 ($C_{1'}$), 114.06 (C_{9b}), 115.10 (C_{9a}), 118.18 ($C_{3'}$-Ar), 127.18 (CH-COO), 130.92 ($C_{5'}$), 133.30 ($C_{6'}$), 134.32 ($C_{4'}$-Cl), 134.55 ($C_{3'}$-Cl), 142.61 (Ar-CH=), 150.79 (C=N), 157.85 (C_{5a}), 160.79 (C_{4a}), 164.51 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3450 (R_2C=N-O-R'); 2934 (-CH), 1740(-COO-), 1642, 1604 (R_2C=N-O-R'), 1473 (-HC=CH-), 1308 (-C=N-), 1258 (-C-N- амид III), 1200 (-CH-), 1129 (=C-Cl-).

***O*-(3,4-диметоксифенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидро-дибензо[*b,d*]-фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5f, MBS-30).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3,4-диметоксикоричной кислоты. Кремовый порошок. Выход 71%. Т. пл. 143-145°C. R_f=0,14 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.73-1.86 (м, 4 H, CH_2-7,8); 1.97-2.05 (м, 2 H, CH_2-3); 2.57-2.59 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.82 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1=6.6, J^2=12.9); 3.93 (с, 3 H, OCH_3); 3.94 (с, 3 H, OCH_3); 6.55 (д, 1 H, =CH-CO-, *J*=15.9); 6.88 (д, 1 H, CH_{Ar}-5', *J*=8.2); 7.11 (с, 1 H, CH_{Ar}-2'); 7.15 (д, 1 H, CH_{Ar}-6', *J*=8.2); 7.76 (д, 1 H, Ar-CH=, *J*=15.9). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.86/22.66/22.77/22.87/23.00/24.11 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 55.82 (3,4-Ome), 109.56 ($C_{5'}$), 111.03 ($C_{2'}$), 113.6 (C_{9b}), 114.13 (C_{9a}), 115.04 (CH-COO), 122.86 ($C_{6'}$), 127.46 ($C_{1'}$), 145.44 (Ar-CH=), 149.19 ($C_{3'}$), 150.61 ($C_{4'}$), 151.25 (C=N), 157.6 (C_{5a}), 160.28 (C_{4a}), 165.49 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3454 (R_2C=N-O-R'); 2933 (-CH); 1738 (-COO-); 1635, 1583 (R_2C=N-O-R'); 1514 (-HC=CH-), 1465 (-C=N-), 1359- (-C-N- амид III), 1264 (R-O-R'), 1129 (R-O-C-O-R').

***O*-(3,4-метилендиоксифенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо-[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5j, SD-16).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3,4-метилендиоксикоричной кислоты. Серо-коричневый порошок. Выход

60%. Т. пл. 157-158°C. R_f=0,64 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.74-1.84 (м, 4 H, CH_2-7,8); 2.01 (м, 2 H, CH_2-3); 2.57 (м, 2 H, CH_2-9); 2.73 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1 = 6.6, J^2 = 12.9); 6.03 (с, 2 H, CH_2O_2); 6.47 (д, 1 H, CH-C=O, *J*=16.0); 6.83 (д, 1 H, CH_{Ar}-5', *J*=8.0); 7.08 (м, 2 H, CH_{Ar}-2',6'); 7.71 (д, 1 H, Ar-CH=, *J*=16.0). Спектр ЯМР^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.89/22.68/22.80/22.88/23.03/24.14 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9), 101.2 (C-diox.), 106.48 ($C_{2'}$), 108.55 ($C_{5'}$), 113.99 (C_{9b}), 114.18 (C_{9a}), 115.14 (CH-COO), 124.65 ($C_{6'}$), 128.94 ($C_{1'}$), 145.19 (Ar-CH=), 148.38 ($C_{3'}$), 149.75 ($C_{4'}$), 150.64 (C=N), 157.64 (C_{5a}), 160.43 (C_{4a}), 165.34 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3449 (R_2C=N-O-R'); 2933 (-CH); 1735 (-COO-); 1604 (R_2C=N-O-R'); 1448 (-HC=CH-); 1259 (-C=N-); 1199 (-C-N-, амид III); 1121 (C-O-C, R-O-R', -COO-).

***O*-(4-метилфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5k, SD-17).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-метилкоричной кислоты. Бесцветные кристаллы. Выход 80%. Т. пл. 131-132°C. R_f=0,75 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.75-1.86 (м, 4 H, CH_2-7,8); 1.98-2.04 (м, 2 H, CH_2-3); 2.41 (с, 3 H, *p*-Me); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72-2.76 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.82 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1 = 6.6, J^2 = 12.9); 6.61 (д, 1 H, CH-C=O, *J* =15.9); 7.22 (д, 2 H, CH_{Ar}-3',5', *J*=8.0); 7.48 (д, 2 H, CH_{Ar}-2',6', *J*=8.1); 7.79 (д, 1 H, Ar-CH, *J*=16.0). Спектр ЯМР^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.50/21.90/22.69/22.81/22.90/23.05/24.17 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9, *p*-Me), 114.2 (C_{9b}), 115.03 (C_{9a}), 115.17 (CH-COO), 128.17 ($C_{2',6'}$), 129.65 ($C_{3',5'}$), 131.79 ($C_{1'}$), 140.89 ($C_{4'}$), 145.52 (Ar-CH=),150.64 (C=N), 157.66 (C_{5a}), 160.51 (C_{4a}), 165.34 (C=O). ИК спектр (KBr, см$^{-1}$): 3445 (R_2C=N-O-R'); 2927 (-CH); 1740, 1721(-COO-); 1639, 1606 (R_2C=N-O-R'); 1443 (-HC=CH-); 1264 (-C=N-); 1186 (-C-N-, амид III); 1132 (C-O-C, R-O-R', -COO-).

***O*-(4-метоксифенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5l, SD-18).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-метоксикоричной кислоты. Желтый порошок. Выход 71%. Т. пл. 160-161°C. R_f=0,60 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.76-1.82 (м, 4 H, CH_2-7,8); 2.01 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.73 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1 = 6.6, J^2 = 12.9); 3.85 (с, 3 H, OCH_3); 6.52 (д, 1 H, CH-CO, *J*=16.0); 6.93 (д, 2 H, CH_{Ar}-2',6', *J*=8.8); 7.53 (д, 2 H, CH_{Ar}-3',5', *J*=8.8); 7.75 (д, 1 H, Ar-CH, *J*=15.9). Спектр ЯМР^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.90/22.69/22.81/22.90/23.04/24.16 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9); 55.40 (OCH_3); 113.53 (C_{9b}); 114.22 (C_{9a}); 114.35 ($C_{3',5'}$); 115.16 (CH-C=O); 127.26 ($C_{1'}$); 129.85

($C_{2',6'}$); 145.19 (Ar-CH=); 150.63 (C=N); 157.61 (C_{5a}); 160.40 (C_{4a}); 161.51 ($C_{4'}$); 165.51 (C=O). ИК спектр (KBr, $см^{-1}$): 3448 (R_2C=N-O-R'); 2990 (-CH); 1740 (-COO-); 1603 (R_2C=N-O-R'); 1510 (C-H); -1309 (-HC=CH-); 1303 (-C=N-); 1207(-C-N-, амид III); 1124 (C-O-C, R-O-R', -COO-).

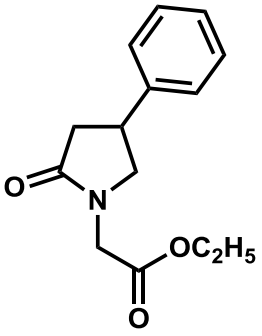
***O*-(3,4,5-триметоксифенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]-фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5m, SD-19).**

Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 3,4,5-триметоксикоричной кислоты. Желтый порошок. Выход 80%. Т. пл. 143-145°C. R_f=0,25 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.74-1.82 (м, 4 H, CH_2-7,8); 1.99 (м, 2 H, CH_2-3); 2.56 (м, 2 H, CH_2-9); 2.72 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.81 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1 = 6.6, J^2 = 12.9); 3.90 (с, 9 H, 3,4,5-MeO); 6.62 (д, 1 H, CH-CO, *J*=16.0); 6.79 (с, 2 H, CH_{Ar}-2',6'); 7.20 (д, 1 H, Ar-CH, *J*=15.9). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.88/22.68/22.88/23.03/23.25/24.16 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9); 58.38 (3,5-MeO); 60.97 (*p*-MeO); 105.28 ($C_{2',6'}$); 114.10 (C_{9b}); 115.04 (C_{9a}); 115.27 (CH-C=O); 129.98 ($C_{1'}$); 140.21 ($C_{4'}$); 145.49 (Ar-CH=); 150.68 ($C_{4'}$); 153.0 ($C_{3',5'}$); 157.73 (C_{5a}); 160.43 (C_{4a}); 165.24 (C=O). ИК спектр (KBr, $см^{-1}$): 3450 (R_2C=N-O-R'); 2939 (-CH); 1717(-COO-); 1582 (R_2C=N-O-R'), 1505 (-HC=CH-), 1320 (-C=N-), 1276 (-C-N-, амид III), 1128 (C-O-C, R-O-R', -COO-).

***O*-(4-трифторметилфенил)акрилоил)оксим 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо-[*b,d*]фуран-1-(2*H*)-она (2.2.5n, SD-20).**

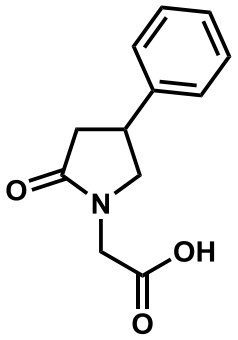
Получен из оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она и хлорангидрида 4-трифторметилкоричной кислоты. Кремовые кристаллы. Выход 60%. Т. пл. 138-139°C. R_f=0,67 (гексан-этилацетат 3:1). Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.77-1.83 (м, 4 H, CH_2-7,8); 2.02 (м, 2 H, CH_2-3); 2.58 (м, 2 H, CH_2-9); 2.74 (м, 4 H, CH_2-2,4); 2.82 (д.т, 2 H, CH_2-6, J^1 = 6.6, J^2 = 12.9); 6.72 (д, 1 H, CH-C=O, *J*=16.1); 7.67 (с, 4 H, CH-2,3,5,6); 7.82 (д, 1 H, Ar-CH, *J*=16.0). Спектр ЯМР^{13}C ($CDCl_3$, δ, м.д.): 21.88/22.67/22.78/22.87/23.02/24.19 (C_2, C_4, C_3, C_6-C_9); 114.04 (C_{9b}); 115.09 (C_{9a}); 118.84 (CF_3); 125.91 ($C_{1'}$); 128.27 ($C_{2',3',5',6'}$); 137.84 ($C_{4'}$); 143.53 (Ar-CH=); 157.89 (C_{5a}); 160.91 (C_{4a}); 164.54 (C=O). ИК спектр (KBr, $см^{-1}$): 3455 (R_2C=N-O-R'); 2940 (-CH); 1740 (-COO-); 1640, 1602 (R_2C=N-O-R'); 1445 (-HC=CH-); 1323 (-C=N-); 1285(C-F); 1242(-C-N- амид III); 1139 (C-O-C, R-O-R', -COO-).

3.1.2.10. Этиловый эфир 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (2.2.18)



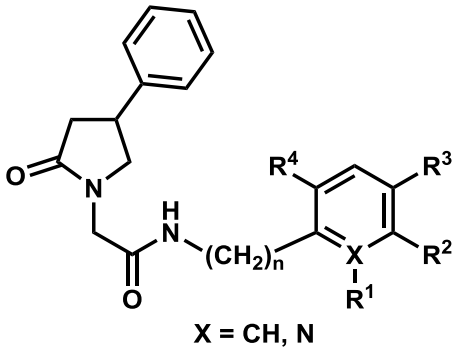
К суспензии 2.26 г (94 ммоль) гидрида натрия в 40 мл сухого диоксана по каплям прибавляют раствор 13.8 г (86 ммоль) 4-фенилпирролидона (**2.2.17**) в 200 мл сухого диоксана, и реакционную смесь перемешивают при нагревании 90°С в течение 1 часа. После охлаждения к смеси по каплям прибавляют раствор 15.8 г (94 ммоль) этилбромацетата в 50 мл сухого диоксана, и смесь греют при 125°С в течение 5 часов и оставляют на ночь. Раствор отфильтровывают от осадка, осадок промывают хлористым метиленом. Объединенные органические растворы упаривают досуха. Остаток перегоняют при 2 мм. рт.ст. Т.кип. 190-192°С. Получают 11.2 г продукта (выход 53%). Характеристики вещества аналогичны описанным в литературе [573].

3.1.2.11. 4-Фенил-2-оксопирролидин-1-уксусная кислота (2.2.19)



4.6 г (18.6 ммоль) этилового эфира 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (**2.2.18**) прибавляют к раствору 1.12 г (20 ммоль) гидроксида калия в 12 мл воды и 12 мл этанола, смесь кипятят в течение 3 часов. Этанол отгоняют, а остаток подкисляют до pH~2 10%-ной соляной кислотой. Осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат в сушильном шкафу при 90°С, получая 4.6 г целевой 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты. Характеристики вещества аналогичны описанным в литературе [573].

3.1.2.12. Общая методика синтеза анилидов (бензиламидов) (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (2.2.16)



X = CH, N

К раствору 30 ммоль (6.57 г) 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты (**2.2.19**) и 30 ммоль (3.03 г) триэтиламина в 200 мл безводного толуола по каплям прибавляют раствор 30 ммоль (4.10 г) изобутилхлорформиата в 15 мл безводного толуола при перемешивании при температуре -15°С в течение 15 минут. Реакционную смесь перемешивают в течение часа при температуре -10°С, после чего к ней прибавляют по каплям раствор 30 ммоль анилина или бензиламина в 15 мл толуола при перемешивании при температуре -10°С в течение 15 минут. Реакционную смесь перемешивают в течение часа при температуре

-10°C и выливают в 150 мл воды. К смеси добавляют 40 мл 5%-ного раствора гидрокарбоната натрия и перемешивают. Органический раствор отделяют и промывают два раза по 80 мл 5%-ного раствора гидрокарбоната натрия и два раза по 100 мл воды, сушат над сульфатом магния и упаривают досуха. Остаток растирают под диэтиловым эфиром и отфильтровывают образовавшийся осадок, получая целевой продукт.

2,6-Диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (2.2.16a, ГИЖ-290).

Получен из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты и 2,6-диметиланилина. Белый порошок. Выход 54%. Т.пл. 115-116°C (из смеси бензол-петролейный эфир). Найдено (%): C, 74.81; H, 6.94; N, 8.84. $C_{20}H_{22}N_2O_2$. Вычислено (%): C, 74.51; H, 6.88; N, 8.84. ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 2.12 (с, 6 H, 2 CH_3); 2.43 (д.д, 1 H, H(3a), ^2J = 16.4 , ^3J = 8.6); 2.73 (д.д, 1 H, H(3b), ^2J = 16.4, ^3J = 9.0); 3.49 и 3.84 (два м, по 1 H, (5)CH_2); 3.65 (м, 1 H, H(4)); 4.03 и 4.14 (два д, по 1 H, CH_2CO, ^2J = 16.4); 7.06 (с, 3 H, Ar); 7.20-7.40 (м, 5 H, Ph); 9.36 (с, 1 H, NH).

2,4,6-Триметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (2.2.16b, ГИЖ-287).

Получен из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты и 2,4,6-триметиланилина. Белый порошок. Выход 60%. Т.пл. 135-136°C (из этилацетата). Найдено (%): C, 75.11; H, 6.96; N, 8.55. $C_{21}H_{24}N_2O_2$. Вычислено (%): C, 74.96; H, 7.19; N, 8.32. ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 2.07 (с, 6 H, 2 CH_3); 2.21 (с, 3 H, CH_3); 2.44 и 2.72 (два м, по 1 H, (3)CH_2); 3.48 и 3.83 (два м, по 1 H, (5)CH_2); 3.64 (м, 1 H, H(4)); 4.05 и 4.12 (два д, по 1 H, CH_2CO, ^2J = 16.7); 6.86 (с, 2 H, Ar); 7.17-7.35 (м, 5 H, Ph); 9.28 (с, 1 H, NH).

2-Метиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты (2.2.16c, ГИЖ-286).

Получен из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты и 2-метиланилина. Белый порошок. Выход 43%. Т.пл. 100-101°C (из смеси бензол-петролейный эфир). Найдено (%): C, 74.08; H, 6.52; N, 8.96. $C_{19}H_{20}N_2O_2$. Вычислено (%): C, 74.00; H, 6.54; N, 9.08. ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 2.13 (с, 3 H, CH_3); 2.42 (д.д, 1 H, H(3a), ^2J = 16.6, ^3J = 8.5); 2.74 (д.д, 1 H, H(3b), ^2J = 16.6, ^3J = 8.8); 3.48 и 3.83 (два м, по 1 H, (5)CH_2); 3.64 (м, 1 H, H(4)); 4.08 и 4.17 (два д, по 1 H, CH_2CO, ^2J = 16.8); 7.00-7.40 (м, 9 H, Ph, Ar); 9.45 (с, 1 H, NH).

2-Метоксианилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (2.2.16d, ГИЖ-295).

Получен из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты и 2-метоксиланилина. Белый порошок. Выход 53%. Т.пл. 94-95°С (из смеси этилацетат-гептан). Найдено (%): С, 70.33; Н, 6.39; N, 8.81. $C_{19}H_{20}N_2O_3$. Вычислено (%): С, 70.35; Н, 6.21; N, 8.64. ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 2.41 (д.д, 1 Н, Н(3a), ^2J = 16.6, ^3J = 8.5); 2.74 (д.д, 1 Н, Н(3b), ^2J = 16.6, ^3J = 9.0); 3.48 (д.д, 1 Н, Н(5a), ^2J = 8.5, ^3J = 8.9); 3.81 (д.д, 1 Н, Н(5b), ^2J = 8.5, ^3J = 8.5); 3.83 (с, 3 Н, OCH_3); 3.62 (м, 1 Н, Н(4)); 4.11 и 4.90 (два д, по 1 Н, CH_2CO, ^2J = 17.0); 6.89-7.93 (м, 4 Н, Ar); 7.50-7.80 (м, 5 Н, Ph); 9.36 (с, 1 Н, NH).

3-Трифторметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (2.2.16e, ГИЖ-296).

Получен из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты и 3-трифторметиланилина. Белый порошок. Выход 54%. Т.пл. 160-161°С (из смеси этилацетат-гептан). Найдено (%): С, 62.82; Н, 4.67; N, 7.75. $C_{19}H_{17}F_3N_2O_2$. Вычислено (%): С, 62.98; Н, 4.73; N, 7.73. ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 2.43 (д.д, 1 Н, Н(3a), ^2J = 16.8, ^3J = 8.3); 2.75 (д.д, 1 Н, Н(3b), ^2J = 16.8, ^3J = 8.8); 3.47 (д.д, 1 Н, Н(5a), ^2J = 8.5, ^3J = 8.5); 3.84 (д.д, 1 Н, Н(5b), ^2J = 8.5, ^3J = 8.5); 3.64 (м, 1 Н, Н(4)); 4.10 и 4.17 (два д, по 1 Н, CH_2CO, ^2J = 16.8); 7.20-8.15 (м, 9 Н, Ph, Ar); 10.47 (с, 1 Н, NH).

Пирид-2-иланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (2.2.16f, ГИЖ-315).

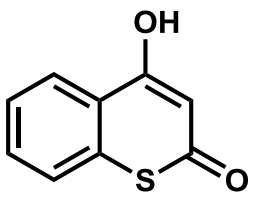
Получен из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты и пиридиламина-2. Белый порошок. Выход 44%. Т.пл. 140-141°С (из этилацетата). Найдено (%): С, 69.15; Н, 5.99; N, 14.40. $C_{17}H_{17}N_3O_2$. Вычислено (%): С, 69.13; Н, 5.80; N, 14.23. ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 2.41 (д.д, 1 Н, Н(3a), ^2J = 16.6, ^3J = 8.5); 2.75 (д.д, 1 Н, Н(3b), ^2J = 16.6, ^3J = 8.8); 3.46 (д.д, 1 Н, Н(5a), ^2J = 8.5, ^3J = 8.5); 3.82 (д.д, 1 Н, Н(5b), ^2J = 8.5, ^3J = 8.5); 3.63 (м, 1 Н, Н(4)); 4.14 и 4.22 (два д, по 1 Н, CH_2CO, ^2J = 16.8); 7.10-8.31 (4 м, по 1 Н, Ру); 7.50-8.02 (м, 5 Н, Ph); 10.65 (с, 1 Н, NH).

Бензиламид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)уксусной кислоты (2.2.16g, ГИЖ-305).

Получен из 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты и бензиламина. Белый порошок. Выход 42%. Т.пл. 91-92°С (из смеси бензол-гептан). Найдено (%): С, 74.00; Н, 6.36; N, 9.33. $C_{19}H_{20}N_2O_2$. Вычислено (%): С, 73.99; Н, 6.54; N, 9.09. ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*, Гц): 2.40 (д.д, 1 Н, Н(3a), ^2J = 16.6, ^3J = 8.5); 2.71 (д.д, 1 Н, Н(3b), ^2J = 16.6,

^3J = 8.8); 3.44 (м, 1 H, H(5a)); 3.62 (м, 1 H, H(4)); 3.77 (м, 1 H, H(5b)); 3.94 (с, 2 H, CH_2Ph); 4.30 (д, по 1 H, CH_2CO, ^2J = 5.6); 7.20-7.38 (м, 10 H, Ph); 8.49 (т, 1 H, NH, ^3J = 5.6).

3.1.2.13. Синтез 4-гидрокси-1-тиокумарина (2.2.27)



Метод А. Получение 4-гидрокси-1-тиокумарина (**2.2.27**) из тиофенола **4** и малоновой кислоты **6** напрямую.

К суспензии 0.122 моль (13 г) малоновой кислоты и 0.122 моль (12.5 мл) тиофенола последовательно добавляют 0.366 моль (48.7 г) хлорида алюминия и 0.366 моль (34.85 мл) фосфорилхлорида. Реакционную массу нагревают до 70°С при перемешивании в течение 30 часов. К реакционной массе добавляют 500 г льда, 500 мл этилацетата, экстрагируют органический слой и трижды промывают его 100 мл воды. Органический раствор трижды экстрагируют 300 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия. Водную фазу подкисляют 10%-ным раствором соляной кислоты до выпадения осадка (pH=4). Осадок растворяют в 20 мл этилацетата и промывают 20 мл дистиллированной воды. Органический раствор профильтровывают через бумажный фильтр, упаривают досуха, остаток перекристаллизовывают из 45 мл этанола, получая 5.36 г (19%) продукта в виде серого порошка. Т. пл. 211-212°С (Лит. [420] т. пл.= 210°С). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 6.07 (с, 1 H, HC(3)); 7.48 (м, 2 H, HC(6), HC(8)); 7.60 (м, 1 H, HC(7)); 8.13 (д, 1 H, HC(5), ^3J = 8.1); 12.26 (уш. с, 1 H, OH).

Метод Б. Получение 4-гидрокси-1-тиокумарина (**2.2.27**) из тиофенола и малоновой кислоты через дитиофениловый эфир малоновой кислоты (**2.2.28**).

Дитиофениловый эфир малоновой кислоты (2.2.28).

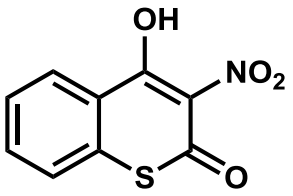
Смесь 75 ммоль (7.81 г) малоновой кислоты, 80 ммоль (12.27 г, 7.46 мл) фосфорилхлорида и 150 ммоль (16.52 г, 15.35 мл) тиофенола кипятят на масляной бане в течение 40 минут. К охлажденной смеси добавляют 80 мл этанола. Образовавшийся осадок отфильтровывают и промывают 50 мл этанола, получая бледно-голубой порошок. После перекристаллизации из 30 мл этанола получают 17.9 г белого кристаллического вещества (выход 82%). Т. пл. 94-95°С (лит. [574] т. пл. 94.6-95.3°С). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 4.33 (с, 2 H, CH_2); 7.36-7.54 (м, 10 H, 2 Ph).

Получение 4-гидрокси-1-тиокумарина (2.2.27) из дитиофенилового эфира малоновой кислоты (2.2.28).

К 20 ммоль (5.76 г) дитиофенилового эфира малоновой кислоты (**2.2.28**) добавляют 60 ммоль (8.00 г) хлорида алюминия и 40 ммоль (2.34 г) хлорида натрия и тщательно перемешивают. Смесь нагревают до 195°С, и температуру поддерживают в течение 25

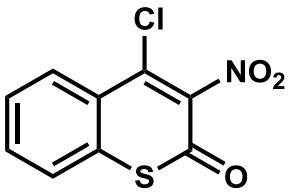
минут. После охлаждения в реакционную массу вливают 100 мл 1%-ной соляной кислоты и 100 мл этилацетата. Органический слой отделяют, продукт экстрагируют 100 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия. Водный раствор отделяют и подкисляют до pH=4, выпавший осадок отфильтровывают и дважды промывают 20 мл дистиллированной воды, получая 1.85 г серого порошка (выход 73%). Характеристики продукта соответствуют веществу, полученному при помощи метода А.

3.1.2.14. 4-Гидрокси-3-нитро-1-тиокумарин (2.2.29)



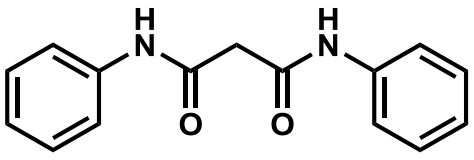
К суспензии 18 ммоль (3.21 г) 4-гидрокси-1-тиокумарина (**2.2.27**) в 80 мл ледяной уксусной кислоты добавляют смесь 19.8 ммоль (1.4 мл) 65%-ной азотной кислоты и 19.8 ммоль (1.14 мл) 96%-ной серной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 3 часов. Выпавший осадок отфильтровывают, дважды промывают 10 мл дистиллированной воды, растворяют при кипячении в толуоле, пропускают горячий раствор через активированный уголь и упаривают досуха, получая 3.78 г продукта в виде желтого порошка (выход 92%). Т. пл. 149-152°C (лит. [575] т. пл. 142-143ºC). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 7.38 (м, 2 H, HC(6), HC(8)); 7.44 (т, 1 H, HC(7), ^3J = 8.1); 8.17 (д, 1 H, HC(5), ^3J = 8.1).

3.1.2.15. 3-Нитро-4-хлор-1-тиокумарин (2.2.25)



Растворяют 4 ммоль (0.373 мл) фосфорилхлорида в 2.5 мл диметилформамида и перемешивают в течение 30 минут. К раствору добавляют 4 ммоль (0.89 г) 4-гидрокси-3-нитротиокумарина (**2.2.29**) в 9.6 мл диметилформамида, и полученную смесь перемешивают 2 часа. К реакционной смеси добавляют 40 мл холодной воды, выпавший осадок отфильтровывают, трижды промывают 10 мл дистиллированной воды и перекристаллизовывают из 10 мл этанола, получая 0.85 г темно-желтых кристаллов (выход 88%). Т.пл. 171-173ºC (Лит. [575] т. пл. 176-177ºC). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 7.77, 7.89, 7.94 (три м, по 1 H, HC(6), HC(7), HC(8)); 8.38 (д, 1 H, HC(5), ^2J = 8.1).

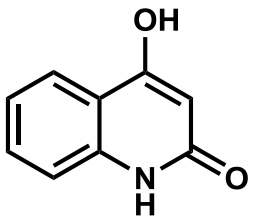
3.1.2.16. Бис-анилид малоновой кислоты (2.2.30)



Смесь 200 ммоль (18.64 г) анилина и 100 ммоль (16.02 г) диэтилового эфира малоновой кислоты нагревают при температуре 210°C в течение 5 часов. После охлаждения реакционной смеси образующийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола, получая 19.3 г белого

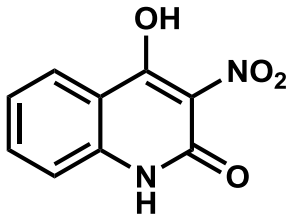
порошка (выход 76%). Т.пл. 227-229°С (лит. [576] т. пл. 226-227°С). Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 3.48 (с, 2 Н, CH_2); 7.07 (д.д, 2 Н, 2 Н(4), $^3J_1$ = 7.6, $^3J_2$ = 7.4); 7.32 (д.д, 4 Н, 2 Н(3), 2 Н(5), $^3J_1$ = 7.6, $^3J_2$ = 8.1); 7.60 (д, 4 Н, 2 Н(2), 2 Н(6), ^3J =8.1), 10.17 (с, 2 Н, 2 NH).

3.1.2.17. 4-Гидроксихинолин-2(1*H*)-он (2.2.31)



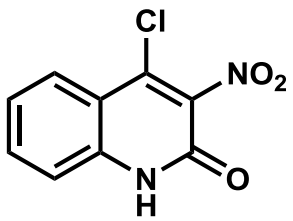
Смесь 50 ммоль (12.72 г) бис-анилида малоновой кислоты (**2.2.30**) и 80 г полифосфорной кислоты нагревают при температуре 150°С в течение 5 часов и выливают в 400 г льда. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой до нейтральной реакции и высушивают, получая 5.88 г бледно-желтого порошка (выход 73%). Т.пл. > 300°С (лит. [576] т. пл. > 300°С). Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 5.74 (с, 1 Н, НС(3)); 7.13 (д.д, 1 Н, Н(6), $^3J_1$ = 8.0, $^3J_2$ = 7.1); 7.27 (д, 1 Н, Н(8), ^3J = 8.0); 7.48 (д.д, 1 Н, Н(7), $^3J_1$ = 8.0, $^3J_2$ = 7.1); 7.77 (д, 1 Н, Н(5), ^3J = 8.0); 11.96 (с, 1 Н, NH).

3.1.2.18. 4-Гидрокси-3-нитрохинолин-2(1*H*)-он (2.2.32)



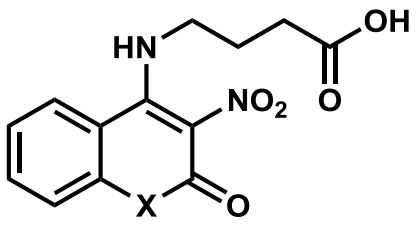
Суспензию 20 ммоль (3.22 г) 4-гидроксихинолин-2(1*H*)-она (**2.2.31**) в 30 мл азотной кислоты (d = 1.33 г/мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 10 минут и при температуре 75°С в течение 20 минут. Полученный раствор выливают в 150 мл ледяной воды. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой до нейтральной среды и высушивают, получая 3.83 г оранжевого порошка (выход 93%). Т.пл. 243-245°С (лит. [577] т. пл. 250°С). Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 7.27 (м, 2 Н, Н(6), Н(8)); 7.65 (м, 1 Н, Н(7)); 8.02 (д, 1 Н, Н(5), ^3J = 7.6); 11.96 (с, 1 Н, NH).

3.1.2.19. 3-Нитро-4-хлорхинолин-2(1*H*)-он (2.2.26)



К раствору 60 ммоль (21.38 г) бромида три-*н*-бутилбензиламмония в 60 мл ацетонитрила добавляют 15 ммоль (3.09 г) 4-гидрокси-3-нитрохинолин-2(1*H*)-она (**2.2.32**) и 36 ммоль (5.52 г) фосфорилхлорида. Смесь перемешивают при температуре 40°С в течение 30 минут, после чего кипятят с обратным холодильником в течение 22 минут и упаривают досуха. К остатку приливают 60 мл воды и перемешивают смесь при комнатной температуре в течение 3 часов. Образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают водой до нейтральной реакции и перекристаллизовывают из 20 мл ацетона, получая 2.02 г желтого порошка (выход 60%). Т.пл. 231-233°С. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 7.46 (м, 2 Н, Н(6), Н(8)); 7.80 (м, 1 Н, Н(7)); 8.01 (д, 1 Н, Н(5), ^3J = 7.9); 11.03 (с, 1 Н, NH).

3.1.2.20. Синтез 4-ГАМК-3-нитрокумаринов и 1-тиокумаринов (2.2.21 и 2.2.22). Общая методика.



Метод А. К раствору 10 ммоль замещенного 4-хлоркумарина (**2.2.24** или **2.2.25**) в 20 мл диоксана добавляют 22 ммоль аминокислоты (**2.2.33**). Реакционную массу кипятят в течение **t** минут, после чего охлаждают. Получившийся осадок отфильтровывают, промывают 10 мл диоксана, трижды дистиллированной водой по 10 мл. Полученное вещество перекристаллизовывают из этанола.

Метод Б. К раствору 10 ммоль замещенного 4-хлоркумарина (**2.2.24** или **2.2.25**) в 200 мл этанола добавляют 10 ммоль аминокислоты (**2.2.33**) и 11 ммоль (1.11 г) триэтиламина. Реакционную массу кипятят в течение **t** минут, после чего упаривают досуха. Остаток промывают трижды дистиллированной водой по 50 мл и перекристаллизовывают из этанола.

***N*-(3-нитрокумарин-4-ил)-4-аминомасляная кислота (2.2.21a, ГМ-1).**

Получена с использованием метода А (**t** = 120 мин, выход 59%) и метода Б (**t** = 90 мин, выход 69%) из 3-нитро-4-хлоркумарина и ГАМК. Желтый порошок. Т.пл. 210-211°С. Найдено (%): С, 53.46; Н, 4.24; N, 9.61. $C_{13}H_{13}N_2O_6$. Вычислено (%): С, 53.63; Н, 4.14; N, 9.59. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.90 (т.т, 2 Н, NHCH$_2$C$\underline{\text{H}}_2$, $^3J_1$ = $^3J_2$ =7.1); 2.30 (т, 2 Н, C$\underline{\text{H}}_2$COOH, ^3J = 7.1); 3.18 (т, 2 Н, NHC$\underline{\text{H}}_2$, ^3J = 7.1); 7.41 (д, 1 Н, Н(8), ^3J =8.2); 7.45 (д.д, 1 Н, НС(6), $^3J_1$ = $^3J_2$ =8.2); 7.73 (д.д, 1 Н, НС(7), $^3J_1$ = $^3J_2$ =8.2); 8.33 (д, 1 Н, НС(5), ^3J = 8.2); 8.44 (уш. с, 1 Н, NH); 12.00 (уш. с., 1 Н, COOH). HRMS (ESI+) *m/z* вычисленный для $C_{13}H_{13}N_2O_6$ $[M+H]^+$ 293.0768; найдено 293.0764.

***N*-(3,6-динитрокумарин-4-ил)-4-аминомасляная кислота (2.2.21c, ГМ-5).**

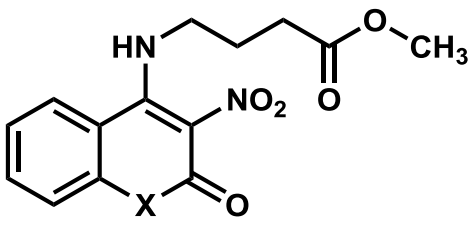
Получена с использованием метода А, **t** = 60 мин из 3,6-динитро-4-хлоркумарина и ГАМК, выход 81%. Желтый порошок. Т.пл. 183- 185°С. Найдено (%): С, 46.21; Н, 3.50; N, 12.62. $C_{13}H_{11}N_3O_8$. Вычислено (%): С, 46.30; Н, 3.29; N, 12.46. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.91 (т.т, 2 Н, NHCH$_2$C$\underline{\text{H}}_2$, $^3J_1$ = 7.2, $^3J_2$ = 6.8); 2.30 (т, 2 Н, CH$_2$CO, ^3J = 7.2); 3.17 (д.т, 2 Н, NHC$\underline{\text{H}}_2$, $^3J_1$ = 6.8, $^3J_2$ = 5.0); 7.62 (д, 1 Н, Н(8), ^3J = 9.1); 8.49 (д.д, 1 Н, Н(7), ^3J = 9.1, ^4J = 2.3); 8.83 (уш. с, 1 Н, NH); 9.39 (д, 1 Н, Н(5), ^4J = 2.3), 12.14 (уш.с., 1 Н, COOH).

***N*-(3-нитро-1-тиокумарин-4-ил)-4-аминомасляная кислота (2.2.22a, ГМ-3).**

Получена с использованием метода А (**t** = 120 мин, выход 60%) и метода Б (**t** = 180 мин, выход 74%) из 3-нитро-4-хлор-1-тиокумарина и ГАМК. Желтый порошок. Т.пл. 215-216°С. Найдено (%): С, 50.64; Н, 3.69; N, 9.33; S, 10.41. $C_{13}H_{11}N_2O_5S$. Вычислено (%): С, 50.65; Н, 3.92; N, 9.09; S, 10.40. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.90 (м, 2 Н,

$NHCH_2C\underline{H}_2$); 2.30 (т, 2 H, CH_2COOH, ^3J = 7.1); 3.18 (м, 2 H, $NHC\underline{H}_2$); 7.62 (м, 3 H, HC(6), HC(7), HC(8)); 8.40 (д, 1 H, HC(5), ^3J = 8.1); 8.43 (уш. с, 1 H, NH); 12.21 (уш. с, 1 H, COOH).

3.1.2.21. Синтез метиловых эфиров 4-ГАМК-3-нитрокумаринов и 1-тиокумаринов (2.2.21 и 2.2.22). Общая методика.



К раствору 10 ммоль замещенного 4-хлоркумарина (**2.2.24** или **2.2.25**) в 80 мл толуола при перемешивании добавляют тщательно перемещенную смесь раствора 10 ммоль хлоргидрата эфира аминокислоты (**2.2.34**) в 8 мл воды и 20 ммоль (2.02 г) триэтиламина. Смесь перемешивают при комнатной температуре **t** минут. Отфильтровывают выпавший осадок, промывают 50 мл 1% HCl и 100 мл дистиллированной воды и просушивают на фильтре.

Метиловый эфир *N*-(3-нитрокумарин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (2.2.21b, ГМ-2).

Получен из 3-нитро-4-хлоркумарина и метилового эфира ГАМК. Выход 79%. **T** = 30 мин. Светло-желтый порошок. Т.пл. 125-126°C. Найдено (%): C, 54.78; H, 4.72; N, 9.06. $C_{13}H_{13}N_2O_6$. Вычислено (%): C, 54.90; H, 4.61; N, 9.15. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.92 (т.т, 2 H, $NHCH_2C\underline{H}_2$, $^3J_1 = {}^3J_2$ = 7.1); 2.38 (т, 2 H, $C\underline{H}_2COOH$, ^3J = 7.1); 3.19 (м, 2 H, $NHC\underline{H}_2$); 3.55 (с, 3H, OCH_3); 7.39 (д, 1 H, H(8), ^3J =8.7); 7.44 (т, 1 H, HC(6), ^3J =8.0); 7.73 (т, 1 H, HC(7), ^3J =7.8); 8.36 (д, 1 H, HC(5), ^3J = 8.1); 8.47 (уш. с, 1 H, NH). HRMS (ESI+) *m/z* вычисленный для $C_{13}H_{13}N_2O_6$ $[M+H]^+$ 307.0925; найдено 307.0921.

Метиловый эфир *N*-(3,6-динитрокумарин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (2.2.21d, ГМ-6).

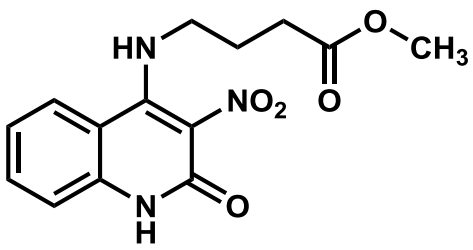
Получен из 3,6-динитро-4-хлоркумарина и метилового эфира ГАМК. Выход 79%. **T** = 25 мин. Светло-желтый порошок. Т.пл. 130-131°C. Найдено (%): C, 48.08; H, 3.62; N, 12.11. $C_{14}H_{13}N_3O_8$. Вычислено (%): C, 47.87; H, 3.73; N, 11.96. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.94 (т.т, 2 H, $NHCH_2C\underline{H}_2$, $^3J_1$ = 7.3, $^3J_2$ = 6.8); 2.40 (т, 2 H, CH_2CO, ^3J = 7.3); 3.17 (д.т, 2 H, $NHC\underline{H}_2$, $^3J_1$ = 6.8, $^3J_2$ = 5.0); 3.57 (с, 3 H, OCH_3); 7.62 (д, 1 H, H(8), ^3J = 9.2); 8.49 (д.д, 1 H, H(7), ^3J = 9.2, ^4J = 2.5); 8.81 (т, 1 H, NH, ^3J = 5.0); 9.39 (д, 1 H, H(5), ^4J = 2.5).

Метиловый эфир *N*-(3-нитро-1-тиокумарин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (2.2.22b, ГМ-4)

Получен из 3-нитро-4-хлор-1-тиокумарина и метилового эфира ГАМК. Выход 77%. **T** = 30 мин. Светло-желтый порошок. Т.пл. 125-126°C. Найдено (%): C, 52.06; H, 4.22; N, 8.87; S, 9.87. $C_{14}H_{14}N_2O_5S$. Вычислено (%): C, 52.17; H, 4.38; N, 8.69; S, 9.95. Спектр ЯМР

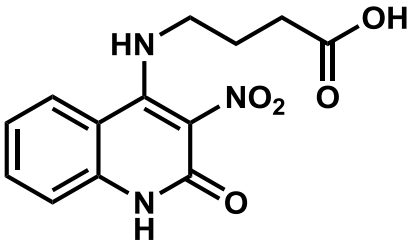
^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 1.92 (т.т , 2 H, NHCH$_2$C<u>H$_2$</u>, $^3J_1$ = $^3J_2$ = 7.1); 2.38 (т, 2 H, C<u>H$_2$</u>COOH, ^3J = 7.1); 3.19 (м, 2 H, NHC<u>H$_2$</u>); 3.55 (с, 3H, OCH$_3$); 7.58 (т, 1 H, H(6), ^3J =8.0); 7.64 (м, 1 H, HC(6)); 7.68 (м, 1 H, HC(8)); 8.40 (д, 1 H, HC(5), ^3J = 8.5); 8.36 (уш. с, 1 H, NH). HRMS (ESI+) *m/z* вычисленный для $C_{13}H_{13}N_2O_6$ [M+H]$^+$ 323.0696; найдено 323.0694.

3.1.2.22. Метиловый эфир *N*-(3-нитро-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (2.2.23a, ГМ-7)



К раствору 1.25 ммоль (0.28 г) 3-нитро-4-хлорхинолин-2(1*H*)-она (**2.2.26**) в 10 мл пиридина добавляют 5 ммоль (0.77 г) хлоргидрата метилового эфира 4-аминомасляной кислоты. Реакционную массу кипятят с обратным холодильником в течение 2 часов. Растворитель упаривают досуха, к остатку добавляют 15 мл воды, и продукт дважды экстрагируют 15 мл дихлорметана. Органический слой упаривают досуха, и остаток перекристаллизовывают из этанола, получая 0.20 г темно-желтого порошка (выход 63%). Т.пл. 208-210°C. Найдено (%): C, 55.01; H, 4.78; N, 13.61. $C_{14}H_{15}N_3O_5$. Вычислено (%): C, 55.08; H, 4.95; N, 13.76. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.98 (м, 2 H, NHCH$_2$C<u>H$_2$</u>); 2.36 (т, 2 H, C<u>H$_2$</u>COOH, ^3J = 7.1); 3.11 (м, 2 H, NHC<u>H$_2$</u>); 3.55 (с, 3 H, OCH$_3$); 7.24 (т, 1 H, H(6), ^3J =7.6); 7.28 (д, 1 H, H(8), ^3J =7.6); 7.42 (т, 1 H, N<u>H</u>CH$_2$, ^3J = 4.3); 7.58 (т, 1 H, HC(7), ^3J = 7.5); 8.20 (д, 1 H, HC(5), ^3J = 8.2); 11.53 (уш. с, 1 H, NH(хинолина)).

3.1.2.23. *N*-(3-нитро-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-ил)-4-аминомасляная кислота (2.2.23b, ГМ-8).



Смесь 0.66 ммоль (0.2 г) метилового эфира N-(3-нитро-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-4-ил)-4-аминомасляной кислоты (**2.2.23a**), 1.3 ммоль (52 мг) гидроксида натрия, 20 мл воды и 20 мл метанола кипятят с обратным холодильником в течение 40 минут, охлаждают до комнатной температуры, подкисляют 1%-ной соляной кислотой до кислой реакции, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат, получая 0.12 г темно-желтого порошка (выход 64%). Т. пл. 119-120°C. Найдено (%): C, 53.58; H, 4.45; N, 14.40. $C_{13}H_{13}N_3O_5$. Вычислено (%): C, 53.61; H, 4.50; N, 14.43. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.85 (м, 2 H, NHCH$_2$C<u>H$_2$</u>); 2.28 (т, 2 H, C<u>H$_2$</u>COOCH$_3$, ^3J = 7.2); 3.08 (м, 2 H, NHC<u>H$_2$</u>); 7.24 (м, 1 H, HC(6)); 7.27 (д, 1 H, H(8), ^3J = 7.6); 7.43 (м, 1 H, N<u>H</u>CH$_2$); 7.58 (м, 1 H, HC(7)); 8.21 (д, 1 H, HC(5), ^3J = 8.2); 11.53 (уш. с, 1 H, NH(хинолина)), 12.16 (уш. с, 1 H, COOH).

3.1.2.24. Методики лабораторного регламента на производство фармацевтической субстанции ГИЖ-298

ТП.1. Получение Z-оксима 4-бензоилпиридина.

В двугорлой круглодонной колбе объемом 2 л, снабженной обратным холодильником и капельной воронкой, растворяют при перемешивании на механической мешалке 50 г (0.274 моль) 4-бензоилпиридина в 270 мл этилового спирта при комнатной температуре и добавляют раствор 56.98 г (0.82 моль) гидроксиламина солянокислого в 60 мл воды. Затем прикапывают из капельной воронки раствор 27,34 г (0,684 моль) гидроксида натрия в 40 мл воды (в течение 15 мин), в результате чего смесь мутнеет и разогревается, остатки щелочи смывают небольшим количеством этилового спирта, и реакционную смесь кипятят при перемешивании 4 ч. По окончании указанного времени реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, оставляют на ночь, выпавший осадок отфильтровывают и промывают большим количеством воды (3*400 мл) и спиртом (100 мл). Вещество высушивают на воздухе в течение часа и перекристаллизовывают из этанола (500 мл, растворяют при кипячении), получая 31.5 г Z-оксима 4-бензоилпиридина, выход 55%.

ВР-1. Осушение ДМФА.

В круглодонную колбу объемом 1 л, снабженную обратным холодильником и хлоркальциевой трубкой, объемом 1 л засыпают 10 г гидрида кальция и заливают 725 мл ДМФА, затем ставят на водяную баню и на вакууме водоструйного насоса (20 мм рт. ст.) кипятят при температуре 90^{o}C в течении 2 часов. Затем меняют холодильник на прямой и отгоняют ДМФА[#1]

Примечания:

#1 Первые 20 мл отделяют и присоединяют потом к кубовому остатку.

ВР-2. Приготовление раствора Z-оксима 4-бензоилпиридина.

В плоскодонной колбе объемом 1000 мл растворяют 37.64 г (0.2 моль) Z-оксима 4-бензоилпиридина в 400 мл сухого ДМФА при перемешивании на магнитной мешалке. Растворение идет медленно, поэтому колбу слегка подогревают. Растворение длится 20-30 мин. В результате получается бесцветный прозрачный раствор.

ВР-3. Приготовление основания 4-(2-хлорэтил)морфолина.

В делительной воронке объемом 500 мл растворяют 43.0 г (0.226 моль) гидрохлорида 4-(2-хлорэтил)морфолина в 150 мл дист. воды, добавляют 60 мл диэтилового эфира и раствор 12 г NaOH в 40 мл дист. воды. Экстрагируют и отделяют

верхний слой, экстракцию повторяют еще 2 раза по 40 мл эфира. Эфирные слои объединяют, высушивают безводным Na_2SO_4 в течение 30 мин, отфильтровывают от осушителя и упаривают эфир досуха при температуре не выше 30°С. Получают 33.0 г бесцветного легкоподвижного масла основания 4-(2-хлорэтил)морфолина.

ТП.2. Получение основания Z-*O*-2-морфолиноэтилоксима 4-бензоилпиридина.

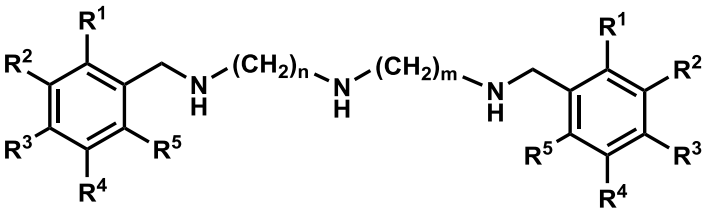
В конической колбе объемом 2 л, снабженной двурогим форштоссом с хлоркальциевой трубкой и капельной воронкой с противодавлением, взвешивают 17.6 г (0.44 моль) 60% NaH (в минеральном масле) и добавляют 30 мл сухого ДМФА (ВР-1). Прикапывают раствор оксима Z-4-бензоилпиридина (ВР-2) к суспензии NaH в ДМФА, наблюдается газовыделение с небольшим разогревом реакционной смеси, и раствор приобретает оранжевый цвет. Воронку споласкивают 10 мл сухого ДМФА. По окончании прибавления всего раствора смесь перемешивают в течение 2 часов до окончания реакции. Основание 4-(2-хлорэтил)морфолина (ВР-3) прикапывают к реакционной смеси в количестве 32.92 г (0.22 моль) при перемешивании на магнитной мешалке. Смесь оставляют перемешиваться на ночь при комнатной температуре. На следующий день реакционную смесь выливают в 4 л дист. воды и экстрагируют этилацетатом 4 раза – 1 раз 1000 мл и 3 раза по 400 мл. Объединенные органические слои промывают 1 раз водой (500 мл) и 1 раз насыщ. р-ром NaCl (500 мл), высушивают безводным Na_2SO_4, фильтруют через вату и упаривают досуха, получая желто-оранжевое масло с количественным выходом (масса 70 г).

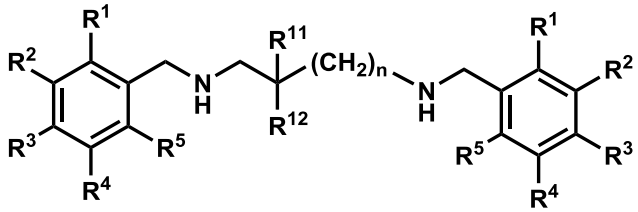
ТП.3. Получение оксалата Z-*O*-2-морфолиноэтилоксима 4-бензоилпиридина.

Основание Z-*O*-2-морфолиноэтилоксима 4-бензоилпиридина (70 г) растворяют в 200 мл спирта. Растворяют 18 г безводной щавелевой кислоты в 50 мл спирта. Нагретые до кипения раствор щавелевой кислоты приливают к раствору основания Z-*O*-2-морфолиноэтилоксима 4-бензоилпиридина. После охлаждения раствора к нему при перемешивании приливают 500 мл диэтилового эфира, после чего оставляют при +4°С на ночь. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают сухим эфиром (100 мл), сушат на воздухе и в сушильном шкафу (+80°С, 2 часа), получая 35 г белого порошкообразного вещества. Продукт растворяют при кипячении в 300 мл спирта, после охлаждения раствора его оставляют при +4°С на ночь. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают на фильтре спиртом (50 мл) и сухим эфиром (50 мл), сушат в сушильном шкафу при 80°С (3 часа) и получают 32 г белого мелкокристаллического вещества. Выход - 80%.

3.1.3. Синтез биароматических соединений с потенциальными кардиотропными свойствами

3.1.3.1. Общая методика получения тригидрохлоридов линейных алкоксифенилтриазаалканов (2.3.1) и дигидрохлоридов линейных алкоксифенилдиазаалканов (2.3.2).





Смесь 50 ммоль алкоксибензальдегида и 25 ммоль алифатического триамина или диамина в 90 мл этанола выдерживали при комнатной температуре сутки. К раствору прибавляли 0,5 г палладиевого катализатора (PdO/C, 10% Pd) и гидрировали при перемешивании при атмосферном давлении и комнатной температуре до полного поглощения водорода. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали досуха. К остатку прибавляли 25 мл воды и продукт экстрагировали бензолом/толуолом. Бензольный/толуольный раствор промывали водой и упаривали досуха. Маслообразный остаток растворяли в 200 мл ацетона, и к раствору прибавляли концентрированную соляную кислоту до кислой реакции. Осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из этанола/изопропанола.

Тригидрохлорид *N*^{1}–(2,3,4-триметоксибензил)-*N*^{2}–{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (2.3.1a, АЛМ-802).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 61%. Т.пл. 176-178°C (с разл.) (из этанола). Найдено %: C 48.81; H 7.22; N 7.12; Cl 18.23. $C_{24}H_{40}Cl_3N_3O_6 \cdot H_2O$. Вычислено %: C 48.78; H 7.16; N 7.11; Cl 18.00. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6+ CF_3COOD, δ, м.д., *J*/Гц): 3.21-3.45 (м, 8 H, $((CH_2)_2)_2N$); 3.76, 3.80, 3.89 (три с, по 6 H, 6 OMe); 4.12 (с, 4 H, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.84 и 7.26 (оба д, по 2 H, 4 ArH, J^3 = 8.7).

Тригидрохлорид *N*^{1}–(3,4,5-триметоксибензил)-*N*^{2}–{2-[(3,4,5-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (2.3.1b, АЛМ-803)

Получен из 3,4,5-триметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 48%. Т.пл. 192-195°C (с разл.) (из этанола). Найдено %: C 48.65; H 7.34; N 7.19; Cl 18.03. $C_{24}H_{40}Cl_3N_3O_6 \cdot H_2O$. Вычислено %: C 48.78; H 7.16; N 7.11; Cl 18.00. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.24-3.47 (м, 8 H, $((CH_2)_2)_2N$); 3.56, 3.80 (два с, 6 H и 12 H, 6 OMe); 4.15 (с, 4 H, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 7.00 (с, 4 H, 4 ArH); 9.82 (уш.с, 3 H, 3 NH).

Тригидрохлорид N^1–(2,3,4-триметоксибензил)-N^3–{3-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]пропил}-1,3-пропандиамина (2.3.1c, АЛМ-805).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и *N*-(3-аминопропил)-1,3-пропандиамина. Выход 54%. Т.пл. 210-212°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 51.08; Н 7.45; N 7.11; Cl 17.35. $C_{26}H_{44}Cl_3N_3O_6 \cdot 0{,}5H_2O$. Вычислено %: С 51.19; Н 7.44; N 6.89; Cl 17.44. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6+ CF_3COOD, δ, м.д., *J*/Гц): 2.02 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$NH); 2.96 (м, 8 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$C$\underline{H}_2$NH); 3.72, 3.74, 3.84 (три с, 18 Н, 6 OMe); 3.99 (с, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$Ar); 6.72 (д, 2 Н, 2 ArH(5), J^3 = 8.6); 7.09 (д, 2 Н, 2 ArH(6), J^3 = 8.6).

Тригидрохлорид N^1–(2,3,4-триметоксибензил)-N^3–{3-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,3-пропандиамина (2.3.1d, АЛМ-811).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и *N*-(2-аминоэтил)-1,3-пропандиамина. Выход 52%. Т.пл. 203-205°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 49.69; Н 7.45; N 7.14; Cl 17.25. $C_{25}H_{42}Cl_3N_3O_6 \cdot H_2O$. Вычислено %: С 49.63; Н 7.33; N 6.96; Cl 17.58. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6+ CF_3COOD, δ, м.д., *J*/Гц): 2.10 (м, 2 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$NH); 3.04 (м, 4 Н, C$\underline{H}_2$CH$_2$C$\underline{H}_2$NH); 3.32 (м, 4 Н, NHC$\underline{H}_2$C$\underline{H}_2$NH); 3.76, 3.81, 3.88, 3.89 (четыре с, 6 Н, 6 Н, 3 Н, 3 Н, 6 OMe); 4.02, 4.10 (оба с, по 2 Н, 2 C$\underline{H}_2$Ar); 6.85 (д, 2 Н, 2 ArH(5), J^3 = 8.8); 7.26, 7.29 (оба д, по 1 Н, 2 ArH(6), J^3 = 8.8).

Тригидрохлорид N^1–(2,4-диметоксибензил)-N^3–{3-[(2,4-диметоксибензил)амино]пропил}-1,3-пропандиамина (2.3.1e, АЛМ-812).

Получен из 2,4-диметоксибензальдегида и *N*-(3-аминопропил)-1,3-пропандиамина. Выход 52%. Т.пл. 211-213°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 51.21; Н 7.52; N 7.87; Cl 18.63. $C_{24}H_{40}Cl_3N_3O_4 \cdot H_2O$. Вычислено %: С 51.57; Н 7.57; N 7.52; Cl 19.00. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 2.00-2.18 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$NH); 2.97 (м, 8 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$C$\underline{H}_2$NH); 3.78, 3.83 (оба с, 12 Н, 4 OMe); 4.00 (с, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$Ar); 6.57 (д, 2 Н, 2 ArH(5), J^3 = 8.5); 6.63 (с, 2 Н, 2 ArH(3)); 7.39 (д, 2 Н, 2 ArH(6), J^3 = 8.5).

Тригидрохлорид N^1–(2,3-диметоксибензил)-N^2–{2-[(2,3-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (2.3.1f, АЛМ-815).

Получен из 2,3-диметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 55%. Т.пл. 182-184°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 51.76; Н 7.08; N 8.30; Cl 20.86. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_4$.Вычислено %:С 51.52; Н 7.07; N 8.19; Cl 20.74. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.29-3.46 (м, 8 Н, ((CH$_2$)$_2$)$_2$N); 3.82, 3.83 (оба с, по 6 Н, 4 OMe); 4.18 (с, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$Ar); 7.10-7.23 (м, 6 Н, Ar).

Тригидрохлорид N^1-(2-метоксибензил)-N^2-[2-((2-метоксибензил)амино)этил]этан-1,2-диамина (2.3.1g, АЛМ-819).

Получен из 2-метоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 54%. Т.пл. 201-203°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: C 50.89; H 7.38; N 9.03; Cl 22.44. $C_{20}H_{32}Cl_3N_3O_2$ H_2O. Вычислено %: C 51.02; H 7.28; N 8.92; Cl 22.59. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Hz): 3.26-3.47 (м, 8 H, $((CH_2)_2)_2N$); 3.85 (с, 6 H, 2 OMe); 4.16 (с, 4 H, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.99 (т, 2 H, 2 ArH(3), J^3 = 8.5); 7.10 (д, 2 H, 2 ArH(2), J^3 = 8.5); 7.41 (т, 2 H, 2 ArH(4), J^3 = 8.5); 7.50 (д, 2 H, 2 ArH(5), J^3 = 8.5).

Тригидрохлорид N^1–(2,4-диметоксибензил)-N^2–{2-[(2,4-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (2.3.1h, АЛМ-820).

Получен из 2,4-диметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 43%. Т.пл. 200-202°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: C 49.79; H 7.31; N 8.05; Cl 20.02. $C_{22}H_{36}N_3Cl_3O_4 \cdot H_2O$. Вычислено %: C 49.77; H 7.21; N 7.91; Cl 20.03. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 3.22-3.43 (м, 8 H, $((CH_2)_2)_2N$); 3.78, 3.83 (оба с, по 6 H, 4 OMe); 4.07 (с, 4 H, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.57 (д, 2 H, 2 ArH(5), J^3 = 8.5); 6.62 (с, 2 H, 2 ArH(3)); 7.40 (д, 2 H, 2 ArH(6), J^3 = 8.5).

Тригидрохлорид N^1–(2,5-диметоксибензил)-N^2–{2-[(2,5-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (2.3.1i, АЛМ-821).

Получен из 2,5-диметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 70%. Т.пл. 109-110°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: C 50.63; H 7.16; N 8.11; Cl 20.70. $C_{22}H_{36}N_3Cl_3O_4 \cdot 0{,}5 \cdot H_2O$ Вычислено %:C 50.63; H 7.15; N 8.05; Cl 20.38. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.27-3.42 (м, 8 H, $((CH_2)_2)_2N$); 3.72, 3.79 (оба с, по 6 H, 4 OMe); 4.15 (с, 4 H, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.93-7.05 (м, 4 H, 2 ArH(3), 2 ArH(4)); 7.19 (м, 2 H, 2 ArH(6)).

Тригидрохлорид N^1–(2,3-диметоксибензил)-N^3–{3-[(2,3-диметоксибензил)амино]пропил}-1,3-пропандиамина (2.3.1j, АЛМ-822).

Получен из 2,3-диметоксибензальдегида и *N*-(3-аминопропил)-1,3-пропандиамина. Выход 56%. Т.пл. 188-190°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: C 51.43; H 7.65; N 7.41; Cl 18.97. $C_{24}H_{40}Cl_3N_3O_4 \cdot H_2O$. Вычислено %: C 51.57%; H 7.57; N 7.52; Cl 19.03. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6 + CF_3COOD, δ, м.д.): 2.00 (м, 4 H, 2 $C\underline{H}_2CH_2NH$); 2.98 (м, 8 H, 2 $C\underline{H}_2CH_2C\underline{H}_2NH$); 3.78, 3.79 (оба с, по 6 H, 4 OMe); 4.09 (с, 4 H, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.97-7.10 (м, 6 H, ArH).

Тригидрохлорид N^1-(2-этоксибензил)-N^2-[2-((2-этоксибензил)амино)этил]этан-1,2-диамина (2.3.1k, АЛМ-824).

Получен из 3-метоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 69%. Т.пл. 215-218°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 54.56; Н 7.71; N 8.61; Cl 22.56. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_2$. Вычислено %: С 54.95; Н 7.55; N 8.74; Cl 22.12. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Hz): 1.39 (т, 6 Н, 2 CH_3, J^3 = 8.0); 3.25-3.49 (м, 8 Н, $((CH_2)_2)_2N$); 4.10 (кв, 4 Н, 2 OCH_2, J^3 = 8.0); 4.15 (с, 4 Н, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.97 (т, 2 Н, 2 ArH(3), J^3 = 8.5); 7.08 (д, 2 Н, 2 ArH(2), J^3 = 8.5); 7.39 (т, 2 Н, 2 ArH(4), J^3 = 8.5); 7.52 (д, 2 Н, 2 ArH(5), J^3 = 8.5).

Тригидрохлорид N^1-(2,4,6-триметоксибензил)-N^2-{2-[2,4,6-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (2.3.1l, АЛМ-830).

Получен из 2,4,6-триметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 49%. Т.пл. 152-155°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 47.35; Н 7.36; N 7.19; Cl 17.52; H_2O 6.33 . $C_{24}H_{40}Cl_3N_3O_6$ $2H_2O$. Вычислено %: С 47.33; Н 7.28; N 6.90; Cl 17.46; H_2O 5.92. Спектр ЯМР ^{1}H (ДМSO, δ, м.д.): 3.21-3.35 (м, 8 Н, $((CH_2)_2)_2N$); 3.80, 3.83 (оба с, 12 и 6 Н, 6 OCH_3); 4.02 (с,4 Н, 2 CH_2Ar), 6,29 (с, 4 Н, Ar).

Тригидрохлорид N^1-(2,4,5-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,4,5-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (2.3.1m, АЛМ-831).

Получен из 2,4,5-триметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 66%. Т.пл. 147-149°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 47.41; Н 7.42 ; N 7.01; Cl 17.52; H_2O 6.24. $C_{24}H_{40}Cl_3N_3O_6$ $2H_2O$. Вычислено %: С 47.33; Н 7.28; N 6.90; Cl 17.46; H_2O 5.92 . Спектр ЯМР ^{1}H (ДМСО, δ, м.д.): 3.28-3.42 (м, 8 Н, $((CH_2)_2)_2N$); 3.73; 3.80, 3.83 (три с, по 6 Н, 6 OCH_3); 4.09 (с, 4 Н, 2 CH_2Ar); 6.74 и 7.25 (оба с, по 2 Н, Ar)

Тригидрохлорид N^1-(3,4-диметоксибензил)-N^2-{2-[(3,4-диметоксибензил)амино]-этил}-1,2-этандиамина (2.3.1n, АЛМ-843)

Получен из 3,4-диметоксибензальдегида и диэтилентриамина. Выход 60%. Т.пл. 225-229°С (с разл.) (из этанола). Найдено %: С 49.65; Н 7.21; N 7.95; Cl 20.15. $C_{22}H_{36}N_3Cl_3O_4 \cdot H_2O$. Вычислено %: С 49.77; Н 7.21; N 7.91; Cl 20.03. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.23-3.46 (м, 8 Н, $((CH_2)_2)_2N$); 3.76, 3.79 (два с, по 6 Н, 4 OMe); 4.13 (с, 4 Н, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.98 (д, 2 Н, 2 ArH, J^3 = 8.3 Гц); 7.07 (д.д, 2 Н, 2 ArH, J^3 = 8.3 Гц, J^4 = 1.9 Гц); 7.33 (д, 2 Н, 2 ArH, J^4 = 1.9 Гц); 9.77 (уш.с, 3 Н, 3 NH).

Дигидрохлорид N^1,N^5-бис(2,3,4-триметоксибензил)-пентан-1,5-диамина (2.3.2a, АЛМ-844).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и 1,5-пентандиамина. Выход 59%. Т. пл. 190-192°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 56.22; Н 7.56; Cl 13.55; N 5.20. $C_{25}H_{40}Cl_2N_2O_6$. Вычислено, %: С 56.07; Н 7.53; Cl 13.24; N 5.23. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 1.35 (м, 2 Н, C$\underline{H}_2$CH$_2$CH$_2$NH); 1.67 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$NH); 2.82 (т, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$NH, J^3 = 7.2 Гц); 3.76, 3,81 и 3.87 (3 с, по 6 Н, 6 OCH$_3$); 4.00 (с, 4 Н, 2 NHC$\underline{H}_2$Ar); 6.86 и 7.30 (2 д, по 2 Н, 4 ArH, J^3 = 8.7 Гц); 9.17 (уш.с, 2 Н, 2 NH).

Дигидрохлорид N^1,N^6-бис(2,3,4-триметоксибензил)-гексан-1,6-диамина (2.3.2b, АЛМ-845).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и 1,6-гександиамина. Выход 59%. Т. пл. 141-143°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 57.07; Н 7.59; Cl 12.6; N 5.36. $C_{26}H_{42}Cl_2N_2O_6$.Вычислено, %: С 56.83; Н 7.70; Cl 12.90; N 5.10. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 1.30 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$CH$_2$NH); 1.67 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$NH); 2.82 (т, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$NH, J^3 = 7.2 Гц); 3.76, 3,81 и 3.87 (3 с, по 6 Н, 6 OCH$_3$); 3.99 (с, 4 Н, 2 NHC$\underline{H}_2$Ar); 6.85 и 7.31 (2 д, по 2 Н, 4 ArH, J^3 = 8.7 Гц); 9.21 (уш.с, 2 Н, 2 NH).

Дигидрохлорид N^1,N^4-бис(2,3,4-триметоксибензил)-бутан-1,4-диамина (2.3.2c, АЛМ-847)

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и 1,4-бутандиамина. Выход 66%. Т. пл. 230-231°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 55.09; Н 7.30; Cl 13.71; N 5.39. $C_{24}H_{38}Cl_2N_2O_6$.Вычислено, %: С 55.28; Н 7.35; Cl 13.60; N 5.37. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 1.73 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$CH$_2$NH); 2.87 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$NH); 3.76, 3,81 и 3.88 (3 с, по 6 Н, 6 OCH$_3$); 4.01 (с, 4 Н, 2 NHC$\underline{H}_2$Ar); 6.86 и 7.29 (2 д, по 2 Н, 4 ArH, J^3 = 8.7 Гц); 9.21 (уш.с, 2 Н, 2 NH).

Дигидрохлорид 1,3-бис-((2,3,4-триметоксибензил)амино)пропан-2-ола (2.3.2d, АЛМ-850)

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и 1,3-диаминопропан-2-ола. Выход 60%. Т. пл. 178-179°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 52.56; Н 7.21; Cl 13.36; N 5.22. $C_{23}H_{36}Cl_2N_2O_7$. Вычислено, %: С 52.78; Н 6.93; Cl 13.54; N 5.35. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 2.89 и 3.05 (два м, по 2Н, C$\underline{H}_2$CHC$\underline{H}_2$); 3.76, 3,81 и 3.88 (3 с, по 6 Н, 6 OCH$_3$); 4.06 (с, 4 Н, 2 NHC$\underline{H}_2$Ar); 4.33 (м, 1 Н, C$\underline{H}$OH); 6.25 (д, 1 Н, OH, J^3 = 5.2 Гц); 6.85 и 7.27 (2 д, по 2 Н, 4 ArH, J^3 = 8.7 Гц); 9.03-9.29 (уш.м, 2 Н, 2 NH).

Дигидрохлорид N^1,N^3-бис(2,3,4-триметоксибензил)-пропан-1,3-диамина (2.3.2e, АЛМ-851)

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и 1,3-пропандиамина. Выход 71%. Т. пл. 189-190°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 54.22; Н 7.17; Cl 14.06; N 5.70. $C_{23}H_{36}Cl_2N_2O_6$. Вычислено, %: С 54.44; Н 7.15; Cl 13.97; N 5.52. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 2.17 (квинтет, 2 Н, C$\underline{H}_2$CH$_2$NH, J^3 = 6,7 Гц); 2.97 (т, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$NH, J^3 = 6,7 Гц); 3.76, 3,81 и 3.88 (3 с, по 6 Н, 6 OCH$_3$); 4.00 (с, 4 Н, 2 NHC$\underline{H}_2$Ar); 6.86 и 7.32 (2 д, по 2 Н, 4 ArH, J^3 = 8.7 Гц); 9.45 (уш.с, 2 Н, 2 NH).

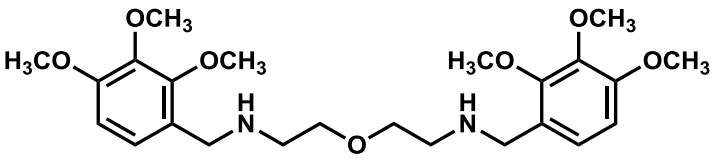
Дигидрохлорид 1,3-бис-((2,3,4-триметоксибензил)амино)-2,2-диметилпропана (2.3.2f, АЛМ-861).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и 2,2-диметилпропандиамина-1,3. Выход 58%. Т. пл. 203-204°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 55.92; Н 7.39; Cl 12.99; N 5.39. $C_{25}H_{40}Cl_2N_2O_6$. Вычислено, %: С 56.07; Н 7.53; Cl 13.24; N 5.23. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 1.10 (с, 6 Н, 2 CH$_3$); 2.89 (с, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$NH); 3.75, 3,81 и 3.87 (3 с, по 6 Н, 6 OCH$_3$); 4.07 (с, 4 Н, 2 NHC$\underline{H}_2$Ar); 6.84 и 7.42 (2 д, по 2 Н, 4 ArH, J^3 = 8.7 Гц); 9.22 (уш.с, 2 Н, 2 NH).

3.1.3.2. Методика получения тригидрохлорида N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамна (2.3.1a) при использовании в качестве восстановителя боргидрида натрия

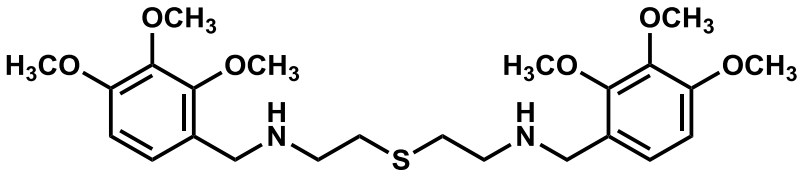
Смесь 10.8 г (55 ммоль) 2,3,4-триметоксибензальдегида и 2.58 г (25 ммоль) диэтилентриамина в 60 мл этанола выдерживали при комнатной температуре сутки, и полученный раствор прибавляли порциями к раствору 2.83 г (75 ммоль) боргидрида натрия в 60 мл этанола при температуре 30-40°С при перемешивании. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре 12 часов, прибавляли к ней 20 мл концентрированной соляной кислоты и упаривали досуха. Остаток растворяли в 20 мл воды и подщелачивали гидроксидом натрия. Продукт экстрагировали толуолом. Толуольный раствор промывали водой и упаривали досуха. Маслообразный остаток растворяли в 180 мл ацетона, и к раствору прибавляли концентрированную соляную кислоту до кислой реакции. Осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из этанола. Выход **2.3.1a** 6.5 г (44%). Т.пл. 176-178°С. Спектр ЯМР ^{1}Н идентичен веществу, полученному другим методом (см. выше).

3.1.3.3. Дигидрохлорид 2,2'-оксибис(*N*-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1-амина) (2.3.1o, АЛМ-863).



Раствор 8.63 г (44 ммоль) 2,3,4-триметоксибензальдегида и 2.1 г (20 ммоль) 2,2'- оксибис(этан-1-амина) в 70 мл спирта выдерживали в течении 1 часа при комнатной температуре. К раствору прибавляли 0,7 г палладиевого катализатора (PdO/C, 10% Pd) и гидрировали при перемешивании при атмосферном давлении и комнатной температуре до полного поглощения водорода. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали досуха. Остаток растворяли в 70 мл ацетона, и к раствору прибавляли концентрированную соляную кислоту до кислой реакции. Осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из смеси ацетон-диэтиловый эфир (1:1) и высушивали. Выход 47%. Т. пл. 67-73°С (с разл.). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 3.02 и 3.74 (оба м, 8 H, $((CH_2)_2)_2O$); 3.76, 3.81, 3.88 (три с, по 6 H, 6 OMe); 4.07 (с, 4 H, 2 C$\underline{H}_2$Ar); 6.84 и 7.40 (оба д, по 2 H, 4 ArH, J^3 = 8.7); 9.49 (уш.с, 2 H, 2 NH).

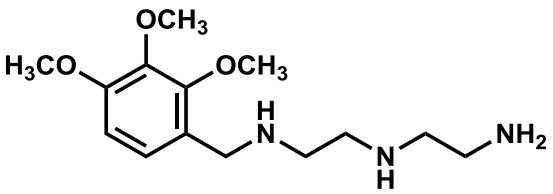
3.1.3.4. Дигидрохлорид 2,2'-тиобис(*N*-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1-амина) (2.3.1p, АЛМ-867).



Растворяют 2.4 г (20 ммоль) 2,2'-тиобис(этиламина) в 40 мл метанола при перемешивании на магнитной мешалке и добавляют 8.63 г (44 ммоль) 2,3,4-триметоксибензальдегида. Смесь охлаждают до 0°С, добавляют 2 мл ледяной уксусной кислоты и порциями 5 г $NaBH_3CN$. Наблюдается газовыделение и вспенивание реакционной смеси. Спустя 4 ч добавляют еще 2 г 2,3,4-триметоксибензальдегида и оставляют перемешиваться на 24 ч при комнатной температуре. Затем раствор упаривают на роторном испарителе, остаток растворяют в 100 мл этилацетата и промывают 100 мл дист. воды в делительной воронке. Органический слой (верхний) отделяют, водный слой экстрагируют 50 мл этилацетата. Объединенные экстракты высушивают безводным Na_2SO_4, отфильтровывают осушитель и упаривают на роторном испарителе. Полученный остаток разбавляют водой, подкисляют HCl до pH = 1 и экстрагируют этилацетатом (3×50мл). Водный слой доводят до pH = 8-9 и снова экстрагируют этилацетатом (3×50 мл). Органический слой высушивают безводным Na_2SO_4, отфильтровывают осушитель и упаривают на роторном испарителе, получая светло-желтое масло, m = 12 г. Полученное вещество растворяют в 50 мл ацетона,

нагревают до кипения и приливают HCl конц. до pH = 1, охлаждают до т. комн. и ставят в морозильник на 3 сут. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают холодным ацетоном и перекристаллизовывают из изопропилового спирта с добавлением воды. Выход – 1.5 г (16%). Белый порошок. Т. пл. 193-194°C (с разл) (из изопропанола). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 2.94-2.97 (м, 4 H, 2CH_2-S), 3.11 (уш.с, 4 H, 2CH_2-N); 3.76, 3.81, 3.88 (три с, по 6 H, 6OMe), 4.06 (с, 4 H, 2CH_2-Ar), 6.86 (д, 2 H, H_{Ar}-5,5', *J* = 8.7), 7.33 (д, 2H, H_{Ar}-6,6', *J* = 8.7), 9.45 (уш. с., 4 H, 2NH_2^+).

3.1.3.5. *N*^{1}-(2-Аминоэтил)-*N*^{2}-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамин (2.3.10)

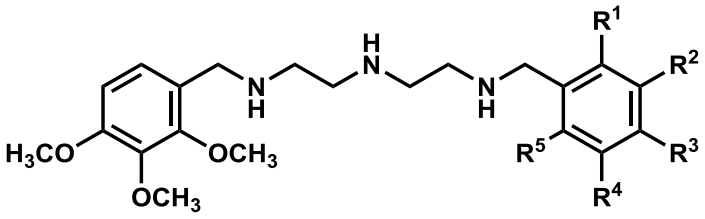


К раствору 30.95 г (0.3 моль) диэтилентриамина в 200 мл спирта добавляют 19.62 г (0.1 моль) 2,3,4-триметоксибензальдегида. Смесь перемешивают в течение 1 ч, к ней добавляют 1 г палладиевого катализатора (PdO/C, 10% Pd) и гидрируют до поглощения теоретического количества водорода. Смесь фильтруют от катализатора и упаривают досуха. Остаток растворяют в 50 мл воды и добавляют концентрированную соляную кислоту до pH 1. Водный раствор экстрагируют хлористым метиленом (3 раза по 50 мл), подщелачивают 40%-ным раствором гидроксида натрия до pH 10-11 и снова экстрагируют хлористым метиленом (3 раза по 50 мл). Органический экстракт высушивают безводным Na_2SO_4 и упаривают досуха, получая светло-желтое масло. Выход 21.7 г (77%). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 1.98 (с, 4 H, 2NH+NH_2), 2.65-2.78 (м, 8 H, 2 CH_2CH_2), 3.71 (с, 2 H, C$\underline{H}_2$Ar), 3.83, 3.85, 3.89 (3 с, по 3 H, 3 OMe), 6.62 (д, 1 H, H_{Ar}-5, *J* = 8.5), 6.92 (д, 1 H, H_{Ar}-6, *J*=8.5).

3.1.3.6. Тригидрохлорид *N*^{1}-(2-аминоэтил)-*N*^{2}-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамина (2.3.11, АЛМ-848)

К раствору 1.4 г (5 ммоль) *N*^{1}-(2-аминоэтил)-*N*^{2}-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамина в 30 мл ацетона прибавляли концентрированную соляную кислоту до кислой реакции. Осадок отфильтровывали, перекристаллизовывали из изопропанола и высушивали, получая продукт в виде белого порошка. Выход 90%. Найдено, %: C, 42.59; H, 7.33; Cl, 27.27; N, 10.68. $C_{14}H_{28}Cl_3N_3O_3$. Вычислено, %: C, 42.81; H, 7.19; Cl, 27.08; N, 10.70. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 3.18-3.41 (м, 8 H, $((CH_2)_2)_2$N); 3.77, 3.82, 3.90 (три с, по 3 H, 3 OMe); 4.11 (с, 2 H, C$\underline{H}_2$Ar); 6.86 и 7.30 (оба д, по 1 H, 2 ArH, J^3 = 8.8); 8.46, 9.58, 10.13 (три уш.с, 1 H, 1H и 2 H, 2 NH и NH_2).

3.1.3.7. Общая методика синтеза тригидрохлоридов N^1-арил-N^2-(2-((2,3,4-триметоксибензил)амино)этил)этан-1,2-диаминов (2.3.1q-w)



Раствор 1.8 г (4.6 ммоль) N^1-(2-аминоэтил)-N^2-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамина (**2.3.10**) и 5.5 ммоль ароматического альдегида в 30 мл спирта выдерживают в течении 1 часа при комнатной температуре. К раствору прибавляют 0.2 г палладиевого катализатора (PdO/C, 10% Pd) и гидрируют при перемешивании при атмосферном давлении и комнатной температуре до полного поглощения водорода. Катализатор отфильтровывают, фильтрат упаривают досуха. Остаток растворяют в 40 мл хлористого метилена. Раствор промывают 2 раза по 20 мл водного раствора карбоната натрия, после чего высушивают и упаривают досуха. Остаток растворяли в 30 мл ацетона, и к раствору прибавляли концентрированную соляную кислоту до кислой реакции. Осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из изопропанола и высушивали, получая целевой продукт.

Тригидрохлорид N^1-бензил-N^2-(2-((2,3,4-триметоксибензил)амино)этил)этан-1,2-диамина (2.3.1q, АЛМ-864)

Получен из N^1-(2-аминоэтил)-N^2-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамина и бензальдегида. Белый порошок. Выход 83%. Т. пл. 190-195°С (с разл.) (из изопропанола). Найдено, %: C, 52.44; H, 7.01; Cl, 22.31; N, 8.85. $C_{21}H_{34}Cl_3N_3O_3$. Вычислено, %: C, 52.24; H, 7.10; Cl, 22.02; N, 8.70. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 3.27-3.47 (м, 8 H, 2 CH_2CH_2); 3.77, 3.82, 3.90 (три с, по 3 H, 3 OMe); 4.11 и 4.21 (два с, по 2 H, C$\underline{H}_2$Ar и C$\underline{H}_2$Ph); 6.86 и 7.30 (оба д, по 1 H, 2 ArH, J^3 = 8.7); 7.39-7.42 и 7.58-7.64 (два м, 3 H и 2 H, PhH); 9.80 (уш.с, 3 H, 3 NH).

Тригидрохлорид 2-метокси-5-(((2-((2-((2,3,4-триметоксибнезил)амино)этил)-амино)этил)амино)метил)фенола (2.3.1r, АЛМ-868).

Получен из N^1-(2-аминоэтил)-N^2-(2,3,4- триметоксибензил)этан-1,2-диамина и 3-гидрокси-4-метоксибензальдегида. Выход 81%. Белый порошок. Т. пл. 125-127°С (с разл.) (из изопропанола). Найдено, %: C, 49.77; H, 6.78; Cl, 20.15; N, 7.84. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_5$. Вычислено, %: C, 49.96; H, 6.86; Cl, 20.11; N, 7.94. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 3.31, 3.39 (два уш.с, по 4 H, 2 CH_2CH_2), 3.76, 3.77, 3.81, 3.90 (четыре с, по 3 H, 4 OMe); 4.04, 4.11 (два с, по 2 H, 2 C$\underline{H}_2$Ar); 6.86 (д, 1 H, H_{Ar}-5, J = 8.6), 6.93-7.00 (м, 3 H, H_{Ar}-2',5',6'); 7.31 (д, 1 H, H_{Ar}-6, J = 8.6), 9.18, 9.69, 10.11 (три уш. с., по 1 H, 3 NH).

Тригидрохлорид 2-метокси-4-(((2-((2-((2,3,4-триметоксибнезил)амино)этил)-амино)этил)амино)метил)фенола (2.3.1s, АЛМ-869).

Получен из N^1-(2-аминоэтил)-N^2-(2,3,4- триметоксибензил)этан-1,2-диамина и 4-гидрокси-3-метоксибензальдегида. Белый порошок. Выход 73%. Т. пл. 157-159°С (с разл.) (из изопропанола). Найдено, %: С, 49.99; Н, 6.68; Cl, 20.09; N, 7.91. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_5$. Вычислено, %: С, 49.96; Н, 6.86; Cl, 20.11; N, 7.94. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.31, 3.40 (два уш.с, по 4 Н, 2 CH_2CH_2), 3.76, 3.79, 3.81, 3.90 (четыре с, по 3 Н, 4 OMe); 4.08, 4.11 (два с, по 2 Н, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.79-6.94 (м, 4 Н, H_{Ar}-5,5',6'); 7.29-7.32 (м, 2 Н, H_{Ar}-2',6); 9.30, 9.71, 10.14 (три уш. с., по 1 Н, 3 NH).

Тригидрохлорид 2-метокси-6-(((2-((2-((2,3,4-триметоксибнезил)амино)этил)-амино)этил)амино)метил)фенола (2.3.1t, АЛМ-870).

Получен из N^1-(2-аминоэтил)-N^2-(2,3,4- триметоксибензил)этан-1,2-диамина и 2-гидрокси-3-метоксибензальдегида. Белый порошок. Выход 83%. Т. пл. 177-179°С (с разл.) (из изопропанола). Найдено, %: С, 49.80; Н, 7.02; Cl, 20.11; N, 7.84. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_5$. Вычислено, %: С, 49.96; Н, 6.86; Cl, 20.01; N, 7.91. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 3.31, 3.39 (два уш.с, по 4 Н, 2 CH_2CH_2), 3.76, 3.77, 3.81, 3.90 (четыре с, по 3 Н, 4 OMe); 4.10, 4.15 (два с, по 2 Н, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 6.80-6.88 (м, 2Н, H_{Ar}-5,4'); 7.01-7.08 (м, 2Н, H_{Ar}-5',6'); 7.08 (д, 1 Н, H_{Ar}-6, J = 8.6); 9.63-10.14 (уш. с., 3 Н, 3 NH).

Тригидрохлорид N^1-(2-метоксибензил)-N^2-(2-((2,3,4-триметоксибензил)амино)-этил)этан-1,2-диамина (2.3.1u, АЛМ-871).

Получен из N^1-(2-аминоэтил)-N^2-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамина и 2-метоксибензальдегида. Белый порошок. Выход 74%. Т. пл. 172-174°С (с разл.) (из изопропанола). Найдено, %: С, 51.37; Н, 7.23; Cl, 20.53; N, 8.11. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_4$. Вычислено, %: С, 51.52; Н, 7.08; Cl, 20.74; N, 8.19. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 3.32, 3.39 (два уш.с, по 4 Н, 2 CH_2CH_2); 3.76, 3.81, 3.85, 3.90 (четыре с, по 3 Н, 4 OMe); 4.11, 4.18 (два с, по 2 Н, 2 $C\underline{H}_2Ar$); 7.00 (д.д, 1 Н, H_{Ar}-5', J_1 = 7.1, J_2 = 7.4); 7.10 (д, 1 Н, H_{Ar}-3', J = 8.2); 7.30 (д, 1 Н, H_{Ar}-6, J = 8.5); 7.42 (д.д, 1 Н, H_{Ar}-4', J_1 = 7.1, J_2 = 7.6); 7.51 (д, 1 Н, H_{Ar}-6', J = 7.1); 9.91-10.13 (уш. с., 3 Н, 3 NH).

Тригидрохлорид N^1-(3-метоксибензил)-N^2-(2-((2,3,4-триметоксибензил)амино)-этил)этан-1,2-диамина (2.3.1v, АЛМ-872).

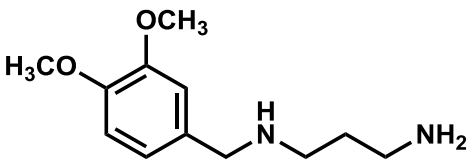
Получен из N^1-(2-аминоэтил)-N^2-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамина и 3-метоксибензальдегида. Белый порошок. Выход 71%. Т. пл. 174-176°С (с разл.) (из изопропанола). Найдено, %: С, 51.71; Н, 7.10; Cl, 20.55; N, 8.09. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_4$. Вычислено, %: С, 51.52; Н, 7.08; Cl, 20.74; N, 8.19. Спектр ЯМР ^{1}Н (DMSO-d_6, δ, м.д.,

J/Гц): 3.32, 3.40 (два уш.с, по 4 H, 2 CH_2CH_2), 3.76, 3.78, 3.81, 3.90 (четыре с, по 3 H, 4 OMe); 4.11, 4.18 (два с, по 2 H, 2 C<u>H</u>$_2$Ar); 6.86 (д, 1 H, H_{Ar}-5, *J* = 8.4); 6.97 (д, 1 H, H_{Ar}-4', *J* = 7.6); 7.13 (д, 1 H, H_{Ar}-6', *J* = 7.6); 7.29-7.36 (м, 3 H, H_{Ar}-2',5',6); 9.90 (уш. с., 3 H, 3 NH).

Тригидрохлорид *N*^{1}-(4-метоксибензил)-*N*^{2}-(2-((2,3,4-триметоксибензил)амино)-этил)этан-1,2-диамина (2.3.1w, АЛМ-873).

Получен из *N*^{1}-(2-аминоэтил)-*N*^{2}-(2,3,4-триметоксибензил)этан-1,2-диамина и 4-метоксибензальдегида. Белый порошок. Выход 79%. Т. пл. >200°C (с разл.) (из изопропанола). Найдено, %: C, 51.50; H, 7.01; Cl, 20.70; N, 8.12. $C_{22}H_{36}Cl_3N_3O_4$. Вычислено, %: C, 51.52; H, 7.08; Cl, 20.74; N, 8.19. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 3.29, 3.36 (два уш.с, по 4 H, 2 CH_2CH_2), 3.77, 3.81, 3.85, 3.90 (четыре с, по 3 H, 4 OMe); 4.11, 4.13 (два с, по 2 H, 2 C<u>H</u>$_2$Ar); 6.87 (д, 1 H, H_{Ar}-5, *J* = 8.5); 6.99 (д, 2 H, H_{Ar}-3',5', *J* = 8.3); 7.28 (д, 1 H, H_{Ar}-6, *J* = 8.5); 7.52 (д, 2 H, H_{Ar}-2',6', *J* = 8.3); 9.99 (уш. с., 3 H, 3 NH).

3.1.3.8. *N*^{1}-(3,4-диметоксибензил)-пропан-1,3-диамин (2.3.12a)



К раствору 0.1 моль 3,4-диметоксибензальдегида и 0.3 моль 1,3-пропандиамина в 100 мл метанола прибавляли 0.3 г палладия на угле (10% Pd). Реакционную массу гидрировали до поглощения теоретического количества водорода. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали досуха. Остаток перегоняли. Выход 74%, бесцветное масло, т.кип. 173-175°C (2.5 мм.рт.ст.), n_D^{20} = 1.5418. Найдено (%): C, 64.53; H, 8.96; N, 12.37. $C_{12}H_{20}N_2O_2$. Вычислено (%): C, 64.26; H, 8.99; N, 12.49. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д., *J*/Гц): 1.52-1.69 (м, 5 H, NH_2, NH, $NH_2CH_2C\underline{H}_2$); 2.64, 2.72 (оба т, по 2 H, C<u>H</u>$_2$NH$_2$, C<u>H</u>$_2$NH, ^3J = 6.8, ^3J = 6.9); 3.68 (с, 2 H, C<u>H</u>$_2$Ar); 3.81, 3.83 (оба с, по 3 H, 2 OMe); 6.73-6.85 (м, 3 H, Ar).

3.1.3.9. Общая методика получения дигидрохлоридов *N*^{1}-(арил)-*N*^{3}-(2,3,4-триметоксибензил)-пропан-1,3-диаминов (2.3.2g,h)

Раствор 30 ммоль *N*-алкоксибензил-1,3-пропандиамина (**2.3.12**) и 35 ммоль алкоксибензальдегида в 100 мл спирта выдерживали в течении 1 часа при комнатной температуре. К раствору прибавляли 1,0 г палладиевого катализатора (PdO/C, 10% Pd) и гидрировали при перемешивании при атмосферном давлении и комнатной температуре до полного поглощения водорода. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали досуха. Остаток растворяли в 150 мл ацетона, и к раствору прибавляли концентрированную соляную кислоту до кислой реакции. Осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из изопропанола и высушивали.

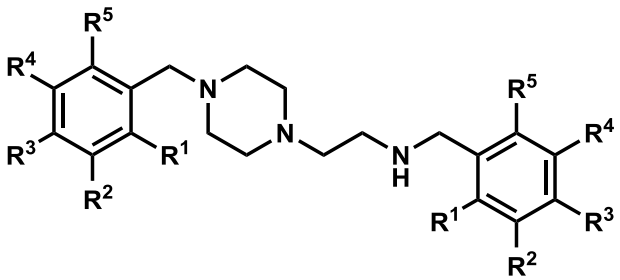
Дигидрохлорид N^1-(3,4-диметоксибензил)-N^3-(2,3,4-триметоксибензил)-пропан-1,3-диамина (2.3.2g, АЛМ-865).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и *N*-(3,4-диметоксибензил)пропандиамина-1,3. Белый порошок. Выход 70%. Т. пл. 192-193°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 55.45; Н 7.01; Cl 14.89; N 5.89. $C_{22}H_{34}Cl_2N_2O_5$. Вычислено, %: С 55.35; Н 7.18; Cl 14.85; N 5.87. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д. , *J*/Гц): 2.19 (квинтет, 2 Н, C$\underline{H}_2$CH_2NH, J^3 = 6,7); 2.96 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$NH); 3.76, 3,78, 3,81 и 3.87 (4 с, по 6 Н и 3 Н, 5 OCH_3); 4.00 и 4.02 (два с, по 2 Н, два NHC$\underline{H}_2$Ar); 6.84 (д, 1 Н, $(OMe)_3$ArH, J^3 = 8.7); 6.95 и 7.06 (два д, по 1 Н, два $(OMe)_2$Ar$\underline{H}$, J^3 = 8.7); 7.33 (д, 1 Н, $(OMe)_3$Ar$\underline{H}$, J^3 = 8.7); 7.40 (с, 1 Н, $(OMe)_2$ArH); 9.27 и 9.56 (два уш.с, по 1 Н, 2 NH).

Дигидрохлорид N^1-(бензил)-N^3-(2,3,4-триметоксибензил)-пропан-1,3-диамина (2.3.2h, АЛМ-866).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и коммерчески доступного *N*-(бензил)пропандиамина-1,3. Белый порошок. Выход 77%. Т. пл. 180-183°С (с разл) (из изопропанола). Найдено, %: С 57.66; Н 7.19; Cl 17.31; N 6.88. $C_{20}H_{30}Cl_2N_2O_3$. Вычислено, %: С 57.56; Н 7.25; Cl 16.99; N 6.71. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д. , *J*/Гц): 2.17 (м, 2 Н, C$\underline{H}_2$CH_2NH); 2.98 (м, 4 Н, 2 C$\underline{H}_2$NH); 3.76, 3,81 и 3.87 (3 с, по 3 Н, 3 OCH_3); 4.00 и 4.10 (два с, по 2 Н, два NHC$\underline{H}_2$Ar); 6.86 (д, 1 Н, $(OMe)_3$Ar$\underline{H}$, J^3 = 8.7); 7.33 (д, 1 Н, $(OMe)_3$Ar$\underline{H}$, J^3 = 8.7); 7.40-7.46 и 7.59-7.62 (два м, 3 Н и 2 Н, Ph); 9.42 и 9.71 (два уш.с, по 1 Н, 2 NH).

3.1.3.10. Общая методика получения 1-(метоксибензил)-4-[2-((метоксибензил)амино)этил]пиперазинов (2.3.3).



Раствор 0.11 моль алкоксибензальдегида и 6.46 г (0,05 моль) 1-(2- аминоэтил)пиперазина в 100 мл спирта выдерживали в течении 1 часа при комнатной температуре. К полученному раствору прибавляли 1.50 г палладиевого катализатора (PdO/C, 10% Pd), и смесь гидрировали при перемешивании при атмосферном давлении и комнатной температуре до полного поглощения водорода. Катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали досуха. К остатку прибавляли 25 мл воды, подкисляли конц. соляной кислотой до кислой реакции и смесь экстрагировали толуолом. Водный слой отделяли, подщелачивали сухим поташом и продукт экстрагировали 2 раза толуолом. Объединенные толуольные растворы промывали водой, профильтровывали

через бумажный фильтр и упаривали досуха. Маслообазной остаток растворяли в ацетоне, раствор подкисляли конц. соляной кислотой до кислой реакции и оставляли кристаллизоваться. Осадок отфильтровывали и высушивали.

Тригидрохлорид 1-(3,4-диметоксибензил)-4-{2-[(3,4-диметоксибензил)амино]этил}пиперазина (2.3.3a, АЛМ-838).

Получен из 3,4-диметоксибензальдегида и 1-(2-аминоэтил)пиперазина. Выход 38%. Т. пл. 229-231°С (с разл) (из спирта). Найдено, %: С 51.86; Н 7.21; N 7.84; Cl 18.81. $C_{24}H_{38}Cl_3N_3O_4$ H_2O. Вычислено, %: С 51.76; Н 7.24; N 7.54; Cl 19.10. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.45 (м, 2 Н, $NCH_2C\underline{H}_2NH$); 3.58 (м, 4 Н, $CH_2CH_2N(CH_2C\underline{H}_2)_2$); 3.60 (м, 2 Н, $NC\underline{H}_2CH_2NH$); 3.62 (м, 4 Н, $CH_2CH_2N(C\underline{H}_2)_2$); 3.77-3.87 (4 с, по 3 Н, 4 OCH_3); 4.09 (с, 2 Н, $NHC\underline{H}_2Ar$); 4.32 (с, 2 Н, $NC\underline{H}_2Ar$); 6.84-7.30 (м, 6 Н, ArH).

Тригидрохлорид 1-(3,4,5-триметоксибензил)-4-{2-[(3,4,5-триметоксибензил) амно]этил}пиперазина (2.3.3b, АЛМ-839).

Получен из 3,4,5-триметоксибензальдегида и 1-(2-аминоэтил)пиперазина. Выход 26%. Т. пл. 219-222°С (с разл.) (из спирта). Найдено, %: С 50.30; Н 7.35; N 7.21; Cl 17.56. $C_{26}H_{42}Cl_3N_3O_6$ H_2O. Вычислено, %: С 50.61; Н 7.19; N 6.81; Cl 17.24. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.35 (м, 2 Н, $NCH_2C\underline{H}_2NH$); 3.48 (м, 2 Н, $NC\underline{H}_2CH_2NH$); 3.65 (м, 4 Н, $CH_2CH_2N(CH_2C\underline{H}_2)_2$); 3.67 (м, 4 Н, $CH_2CH_2N(C\underline{H}_2)_2$); 3.79-3.87 (6 с, по 3 Н, 6 OCH_3); 4.12 (с, 2 Н, $NHC\underline{H}_2Ar$); 4.34 (с, 2 Н, $NC\underline{H}_2Ar$); 7.01 и 7.11 (2 с, по 2 Н, ArH).

Тригидрохлорид 1-(2,3,4-триметоксибензил)-4-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}пиперазина (2.3.3c, АЛМ-840).

Получен из 2,3,4-триметоксибензальдегида и 1-(2-аминоэтил)пиперазина. Выход 8,00 г (27%). Т. пл. 200-203°С (с разл) (из спирта). Найдено, %: С 52.02; Н 7.05; N 6.82; Cl 17.44. $C_{26}H_{42}Cl_3N_3O_6$. Вычислено, %: С 52.13; Н 7.07; N 7.02; Cl 17.76. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д. , *J*/Гц): 3.46 (м, 2 Н, $NCH_2C\underline{H}_2NH$); 3.56 (м, 4 Н, $CH_2CH_2N(CH_2C\underline{H}_2)_2$); 3.60 (м, 4 Н, $CH_2CH_2N(C\underline{H}_2)_2$); 3.61 (м, 2 Н, $NC\underline{H}_2CH_2NH$); 3.75-3.87 (6 с, по 3 Н, 6 OCH_3); 4.08 (с, 2 Н, $NHC\underline{H}_2Ar$); 4.27 (с, 2 Н, $NC\underline{H}_2Ar$); 6.85-7.35 (4 д, по 1 Н, ArH, J = 8.7).

Тригидрохлорид 1-(2-метоксибензил)-4-{2-[(2-метоксибензил)амино]этил}-пиперазина (2.3.3d, АЛМ-841).

Получен из 2-метоксибензальдегида и 1-(2-аминоэтил)пиперазина. Выход 28%. Т. пл. 195-198°С (с разл.) (из спирта). Найдено, %: С 52.95; Н 7.38; N 8.62; Cl 21.80. $C_{22}H_{34}Cl_3N_3O_2$ H_2O. Вычислено, %: С 53.18; Н 7.30; N 8.46; Cl 21.40. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.30 (м, 2 Н, $NCH_2C\underline{H}_2NH$); 3.51 (м, 2 Н, $NC\underline{H}_2CH_2NH$); 3.57 (м, 4 Н,

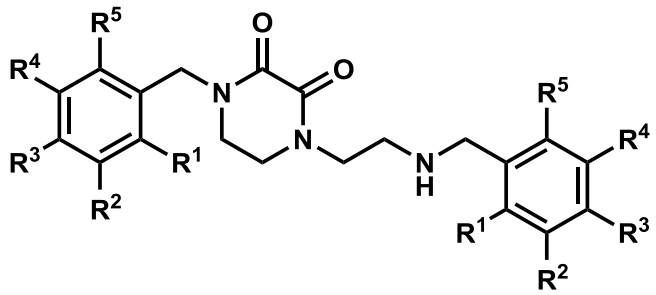
$CH_2CH_2N(CH_2C\underline{H}_2)_2$); 3.61 (м, 4 H, $CH_2CH_2N(C\underline{H}_2)_2$); 3.82 и 3.84 (2 с, по 3 H, 2 OCH_3); 4.13 (с, 2 H, $NHC\underline{H}_2Ar$); 4.31 (с, 2 H, $NC\underline{H}_2Ar$); 6.99-7.61 (м, 8 H, ArH).

Тригидрохлорид 1-(2,4-диметоксибензил)-4-{2-[(2,4-диметоксибензил)амино]этил}пиперазина (2.3.3e, АЛМ-842).

Получен из 2,4-диметоксибензальдегида и 1-(2-аминоэтил)пиперазина. Выход 34%. Т. пл. 189-192°C (с разл.) (из спирта). Найдено, %: C 53.73; H 7.34; N 7.56; Cl 19.93. $C_{24}H_{38}Cl_3N_3O_4$. Вычислено, %: C 53.49; H 7.11; N 7.80; Cl 19.73. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.30 (м, 2 H, $NCH_2C\underline{H}_2NH$); 3.39 (м, 2 H, $NC\underline{H}_2CH_2NH$); 3.45 (м, 4 H, $CH_2CH_2N(CH_2C\underline{H}_2)_2$); 3.71 (м, 4 H, $CH_2CH_2N(C\underline{H}_2)_2$); 3.80-3.87 (4 с, по 3 H, 4 OCH_3); 4.05 (с, 2 H, $NHC\underline{H}_2Ar$); 4.25 (с, 2 H, $NC\underline{H}_2Ar$); 6.61-7.42 (м, 6 H, ArH).

3.1.3.11. Общая методика получения 1-(метоксибензил)-4-[2-((метоксибензил)амино)этил]пиперазин-2,3-дионов (2.3.4)

Смесь замещенных N^1-метоксибензил-N^2-(2-(метоксибензил)амино)этан-1,2-диаминов (**2.3.1**) и диэтилоксалата в молярном соотношении 1:1,2, соответственно, выдерживали при комнатной температуре в течении 2-х суток. К реакционной смеси прибавляли воду, и подкисляли смесь до кислой реакции конц. соляной кислотой. Полученный раствор экстрагировали 2 раза толуолом. Водный раствор подщелачивали поташом до щелочной реакции и продукт извлекали 2 раза толуолом. Толуольный раствор промывали горячей водой, профильтровыволи через бумажный фильтр и упаривали досуха. Маслообразные остатки растворяли в ацетоне в соотношении 1 г маслообразного остатка на 10 мл ацетона. Для получения гидрохлоридов продуктов полученные растворы подкисляли конц. соляной кислотой до кислой реакции и оставляли до кристаллизации. Осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и перекристаллизовывали.



Гидрохлорид 1-(2-метоксибензил)-4-{2-[(2-метоксибензил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона (2.3.4a, АЛМ-832).

Получен из N^1-(2-метоксибензил)-N^2-{2-[(2-метоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина и диэтилоксалата. Выход 61%. Т.пл. 152-154°C (из изопропанола). Найдено, %: C 60.50; H 6.71; N 9.52; Cl 8.16. $C_{28}H_{28}ClN_3O_4$. Вычислено, %: C 60.89; H 6.50; N 9.68; Cl 8.17. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.13 (м, 2 H, (2')CH_2); 3.56 и 3.60 (два м, по 2

H, (5)CH_2 и (6)CH_2); 3.79 (м, 2 H, (1')CH_2); 3.81 и 3.84 (два с, по 3 H, 2OCH_3); 4.14 (с, 2 H, NHC$\underline{H}_2$Ar); 4.52 (с, 2 H, CONCH_2Ar); 6.92-7.49 (м, 8 H, Ar); 9.10 (уш. м, 1 H, NH).

Гидрохлорид 1-(2,3,4-триметоксибензил)-4-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]-этил}пиперазин-2,3-диона (2.3.4b, АЛМ-833).

Получен из N^1-(2,3,4-триметоксибензил)-N^2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]-этил}-1,2-этандиамина и диэтилоксалата. Выход 76%. Т.пл. 181-183°С (из изопропанола). Найдено, %: С 56.40; Н 6.50; N 7.60; Cl 6.46. $C_{26}H_{36}ClN_3O_8$. Вычислено, %: С 56.37; Н 6.55; N 7.58; Cl 6.40. Спектр ЯМР ^{1}H (D_2O, δ, м.д): 3.13 (м, 2H, (2')CH_2); 3.47 и 3.53 (два м, по 2 H, (5)CH_2 и (6)CH_2); 3.65 (м, 2 H, (1')CH_2); 3.74-3,86 (пять с, 12 H, 6OCH_3); 4.08 (с, 2 H, NHC$\underline{H}_2$Ar); 4.49 (с, 2 H, CONCH_2Ar); 6.76-7.19 (м, 4 H, Ar); 8.81 (уш. м, 1 H, NH).

Гидрохлорид 1-(3,4-диметоксибензил)-4-{2-[(3,4-диметоксибензил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона (2.3.4c, АЛМ-835).

Получен из N^1-(3,4-диметоксибензил)-N^2-{2-[(3,4-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина и диэтилоксалата. Выход 44%. Т.пл. 228-230°С (из воды). Найдено, %: С 58.25; Н 6.61; N 8.50; Cl 7.28. $C_{24}H_{32}ClN_3O_6$. Вычислено, %: С 58.35; Н 6.53; N 8.51; Cl 7.18. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.08 (м, 2 H, (2')CH_2); 3.49 и 3.55 (два м, по 2 H, (5)CH_2 и (6)CH_2); 3.73 (м, 2 H, (1')CH_2); 3.74 и 3.77 (два с, по 6 H, 4 OCH_3); 4.08 (с, 2 H, NHC$\underline{H}_2$Ar); 4.50 (с, 2 H, CONCH_2Ar); 6.90-7.33 (м, 6 H, Ar); 9.35 (уш. м, 1 H, NH).

Гидрохлорид 1-(2,4-диметоксибензил)-4-{2-[(2,4-диметоксибензил)амино]этил}-пиперазин-2,3-диона (2.3.4d, АЛМ-836).

Получен из N^1-(2,4-диметоксибензил)-N^2-{2-[(2,4-диметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина и диэтилоксалата. Выход 54%. Т.пл. 176-177°С (из спирта). Найдено, %: С 58.47; Н 6.56; N 8.70; Cl 7.18. $C_{24}H_{32}ClN_3O_6$. Вычислено, %: С 58.35; Н 6.53; N 8.51; Cl 7.17. Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д.): 3.06 (м, 2 H, (2')CH_2); 3.49 и 3.58 (два м, по 2 H, (5)CH_2 и (6)CH_2); 3.70 (м, 2 H, (1')CH_2); 3.75, 3.78 и 3.81 (три с, 3 H, 6H и 3H, 4 OCH_3); 4.04 (с, 2 H, NHC$\underline{H}_2$Ar); 4.44 (с, 2 H, CONCH_2Ar); 6.48-7.40 (м, 6 H, Ar); 9.10 (уш. м, 1 H, NH).

1-(3,4,5-Триметоксибензил)-4-{2-[(3,4,5-триметоксибензил)амино]-этил}пиперазин-2,3-дион (2.3.4e).

Получен из N^1-(3,4,5-триметоксибензил)-N^2-{2-[(3,4,5-триметоксибензил)амино]-этил}-1,2-этандиамина и диэтилоксалата. Продукт выделяли в виде основания путем кристаллизации из ацетона. Выход 60%. Т.пл. 97-99°С (из ацетона). Найдено, % С 60.21; Н 6.90; N 8.15. $C_{26}H_{35}N_3O_8$. Вычислено, %: С 60.34; Н 6.82;N 8.12. Спектр ЯМР ^{1}H ($CDCl_3$, δ, м.д.): 1.66 (уш. м, 1 H, NH); 2.86 (м, 2 H, (2')CH_2); 3.42 и 3.49 (два м, по 2 H, (5)CH_2 и

(6)CH_2); 3.60 (м, 2 H, (1')CH_2); 3.72 (с, 2 H, NHC$\underline{H}_2$Ar); 3.80-3.82 (три с, 12 H, 6 OCH_3); 4.59 (с, 2 H, $CONCH_2$Ar); 6.50 и 6.52 (оба с, по 2 H, Ar).

3.1.3.12. Сукцинат *N*[1]-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*[2]-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)-амино]этил}-1,2-этандиамина (АЛМ-802S)

К раствору 4.64 г (10 ммоль) *N*[1]-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*[2]-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина в 20 мл 96%-ного этанола при кипячении прибавляют раствор 2.36 г (20 ммоль) янтарной кислоты в 20 мл 96%-ного этанола. Полученную смесь оставляют охлаждаться до комнатной температуры, после чего оставляют на сутки при -15°С. Выпавший осадок отфильтровывают, перекристаллизовывают из минимального количества 96%-ного этанола, получая 4.0 г продукта в виде белого порошка (выход 62%). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 2.30 (с, 6 H, 1,5*2CH_2-COO^-); 2.73-2.75 (м, 4 H, CH_2-N); 2.85-2.87 (м, 4 H, CH_2-N); 3.69 (с, 4 H, C$\underline{H}_2$Ar); 3.74, 3.78, 3.89 (три с, по 6 H, 6 OMe); 6.76 и 7.04 (оба д, по 2 H, 4 ArH, J^3 = 8.6); 8.45 (уш. с., 3H, -NH_2^+-). Элементный анализ на брутто-формулу $C_{24}H_{37}N_3O_6$ * 1,5$(CH_2COOH)_2$: Вычислено, %: C, 56.24; H, 7.24; N, 6.56; Найдено: C, 56.35; H, 7.11; N, 6.59. Т.пл. 139-141°С.

3.1.3.13. Цитрат *N*[1]-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*[2]-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]-этил}-1,2-этандиамина (АЛМ-802C)

К раствору 4.64 г (10 ммоль) *N*[1]-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*[2]-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этан-диамина в 20 мл 96%-ного этанола при кипячении прибавляют раствор 2.88 г (15 ммоль) лимонной кислоты в 20 мл 96%-ного этанола. Полученную смесь оставляют охлаждаться до комнатной температуры, после чего оставляют на сутки при -15°С. Выпавший осадок отфильтровывают, перекристаллизовывают из минимального количества 96%-ного этанола, получая 6.45 г продукта в виде белого порошка (выход 79%). Спектр ЯМР ^{1}H (DMSO-d_6, δ, м.д., *J*/Гц): 2.47-2.59 (м, 7,2 H, 1,8*2CH_2-COO^-); 2.87 (с, 8 H, CH_2-N); 3.76, 3.80, 3.84 (три с, по 6 H, 6 OMe); 3.92 (с, 4 H, C$\underline{H}_2$-Ar); 6.82 и 7.12 (оба д, по 2 H, 4 ArH, J^3 = 8.6); 9.08 (уш.с., 9.38 H, -NH_2^+-). Элементный анализ на брутто-формулу $C_{24}H_{37}N_3O_6$ * 1,8$(C_6H_8O_7)$: Вычислено, %: C, 51.64; H, 6.40; N, 5.19; Найдено: C, 51.60; H, 6.21; N, 5.33. Т.пл. 154-156°С.

3.1.3.14. Методики лабораторного регламента на производство фармацевтической субстанции АЛМ-802

ТП.1. Получение *N*^{1}-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*^{2}-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)-амино] этил}-1,2-этандиамина (АЛМ-802(основание)).

В колбу емкостью 0.5 литра загружают раствор 43.2 г (0.22 мол) 2,3,4-триметоксибензальдегида в 200 мл спирта прибавляют 10.32 г (10.86 мл) (0.1 мол) диэтилентриамина и смесь выдерживают в течении 1 часа при комнатной температуре. К реакционной смеси присыпают 1.5 г палладиевого катализатора (Pd/C, 10% Pd). Колбу соединяют с двухрогим форштосом, соединённым с газометром и водоструйным насосом. Из прибора откачивают воздух и прибор заполняют водородом. Для полноты удаления из прибора воздуха процесс откачки повторяют ещё 2 раза. После заполнения прибора водородом реакционную смесь начинают перемешивать магнитной мешалкой. При перемешивании начинается поглощение водорода, что видно по пробулькиванию водорода в барбатёре. Теоретическое количество водорода (4.48 литра) поглощается за 3-3.5 часа. После окончания гидрирования катализатор отфильтровывают на стеклянном фильтре № 3. Спирт отгоняют на роторном испарителе в вакууме при температуре в бане 50-90 ^{o}C. После отгонки спирта получают 48 г желтого масла, которое является неочищенным основанием АЛМ-802. Расчетное количество АЛМ-802 (основание) составляет 46.2 г (100%).

ТП.2. Получение неочищенного тригидрохлорида *N*^{1}-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*^{2}-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамна моногидрата (АЛМ-802)

В трёхгорлую круглодонную колбу, снабжённую капельной воронкой, мешалкой и термометром помещают раствор 48 г маслообразного остатка, полученного на стадии ТП 1.1 в 290 мл ИПС. Раствор при перемешивании нагревают до 70-75 и прикапывают около 30 мл конц. соляной кислоты до кислой реакции по универсальному индикатору. Полученный раствор без перемешивания оставляют самоохлаждаться. При этом выпадает кристаллический осадок. После выдерживания реакционной массы в течении 5 часов, осадок отфильтровывают на стеклянном фильтре № 2. Осадок промывают сначала 100 мл ИПС а затем 200 мл ацетона и тщательно отжимают. Осадок высушивают сначала при комнатной температуре в течении суток а затем при температуре около 55 в сушильном шкафу. Выход неочищеного АЛМ-802 53 г (89.8%, считая на диэтилентриамин). Далее полученный продукт используется на стадии ТП 1.3.

ТП.3. Получение фармацевтической субстанции тригидрохлорида *N*^{1}-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*^{2}-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)-амино]этил}-1,2-этандиамина моногидрата (АЛМ-802)

В трёхгорлую колбу, объёмом 0.5 литра, снабжённую мешалкой, помещают 53 г неочищенного АЛМ-802 (ТП 1.2), приливают 318 мл раствора спирта с соляной кислотой и при перемешивании нагревают до кипения. При этом весь осадок неочищенного АЛМ - 802 ратворяется. После полного растворения осадка перемешивание прекращают и оставляют самоохлаждатся. Смесь оставляют при комнатной температуре в течение 5 часов, осадок отфильтровывают на стеклянном фильтре № 2 и промывают 2 раза ацетоном. Для первой промывки берут 200 мл ацетона для второй - 100 мл. Полученный осадок тщательно отжимают и высушивают сначала при комнатной температуре в течение суток а затем 5 часов при температуре 50-60^{o}C в сушильном шкафу.

Выход фармакопейного АЛМ-802 44,5 г (75.3%,считая на диэтилентриамин).

ТП.2`. Получение неочищенного сукцината *N*^{1}-(2,3,4-триметоксибензил)-*N*^{2}-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамна моногидрата (АЛМ-802S)

В трёхгорлую круглодонную колбу, снабжённую капельной воронкой, мешалкой и термометром помещают раствор 75.9 г маслообразного остатка, полученного на стадии ТП 1.1 в 250 мл этанола ректификата. Раствор при перемешивании нагревают до кипения. К нему при перемешивании приливают раствор 38.7 г (0,327 моль) янтарной кислоты в 250 мл этанола ректификата, нагретый до кипения. Полученный раствор перемешивают, после чего без перемешивания оставляют самоохлаждаться. После охдлаждения раствора до комнатной температуры его оставляют на 12 часов при температуре +4^{o}C. При этом выпадает кристаллический осадок. Осадок отфильтровывают на стеклянном фильтре № 2 и промывают 100 мл холодного этанола ректификата. Продукт высушивают сначала при комнатной температуре в течении суток а затем при температуре около 55 в сушильном шкафу. Выход неочищеного АЛМ-802S 95.8 г (91%, считая на диэтилентриамин). Далее полученный продукт используется на стадии ТП 1.3`.

ТП.3`. Получение фармацевтической субстанции сукцината N1-(2,3,4-триметоксибензил)-N2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)-амино]этил}-1,2-этандиамина моногидрата (АЛМ-802S)

В трёхгорлую колбу, объёмом 1 литр, снабжённую мешалкой, помещают 95.8 г неочищенного АЛМ-802S (ТП 1.2`), приливают 250 мл этанола ректификата и при перемешивании нагревают до кипения. При этом весь осадок неочищенного АЛМ-802 ратворяется. После полного растворения осадка перемешивание прекращают и оставляют самоохлаждатся. Смесь оставляют при комнатной температуре в течение 5 часов, затем 12

часов при температуре +4°С, осадок отфильтровывают на стеклянном фильтре № 2 и промывают 1 раз 100 мл холодного этанола ректификата. Полученный осадок тщательно отжимают и высушивают сначала при комнатной температуре в течение суток а затем 5 часов при температуре 50-60°С в сушильном шкафу.

Выход фармакопейного АЛМ-802S 78.5 г (82%, считая на диэтилентриамин).

1.1.3. Регистрация порошкограмм

Дифрактограмма образцов ГМ-1 и ГМ-3 были зарегистрирована на порошковом дифрактометре Bruker D8 Advance Vario, оснащенном рентгеновской трубкой с медным анодом и Ge(111)-монохроматором (CuKα1) и позиционно-чувствительным детектором LynxEye, в установках на просвет. Интервал съёмки составил 2–90° 2θ, шаг 0.01° 2 θ. Квантовохимические расчеты кристалла проводились с помощью пакета программ Quantum Espresso [578] в рамках теории функционала плотности (обменно-корреляционный функционал PBE [579]) с базисным набором плоских волн (предельное значение кинетической энергии 640 эВ) и поправкой на дисперсионные взаимодействия [580], остовные электроны описывались псевдопотенциалами типа UltraSoft [581].

Для индицирования использовали алгоритм SVD-Index [582], реализованный в программе Bruker Topas5. Для поиска структурного мотива применяли алгоритм параллельной закалки, реализованный в программе FOX [583].

Уточнение структурной модели методом Ритвельда проводили в Bruker Topas5 (рис. 121, 122). При уточнении использовали ограничения на длины связей и валентные углы; значения ограничений выставлялись в соответствии с типичными значениями для аналогичных соединений с помощью программы Mogul [584]. Атомы водорода на каждом шаге уточнения помещали в геометрически рассчитанные положения. Преимущественная ориентация описывалась методом Марша-Долласа [585]. В процессе уточнения общий вес ограничений понижали; подробно протокол уточнения молекулярных кристаллов методом Ритвельда с ограничениями описан в [586].

Уточненные таким образом структурные модели использовали в качестве стартовой геометрии для квантовохимической оптимизации. Параметры ячейки в процессе оптимизации фиксировали на экспериментальных значениях. Оптимизированные структуры использовались при финальном уточнении методом Ритвельда в качестве источников ограничений и стартовых моделей. Параметры расходимости финальных уточнений представлены в таблице 33.

Таблица 33. Параметры расходимости для уточнения структуры ГМ-1 и ГМ-3 методом Ритвельда.

Параметр	ГМ-1	ГМ-3
R_p	0.0220	0.0431
R_{wp}	0.0345	0.0689
R_p‘	0.1111	0.1590
R_{wp}‘	0.1007	0.1740
R_{Bragg}	0.0235	0.0303

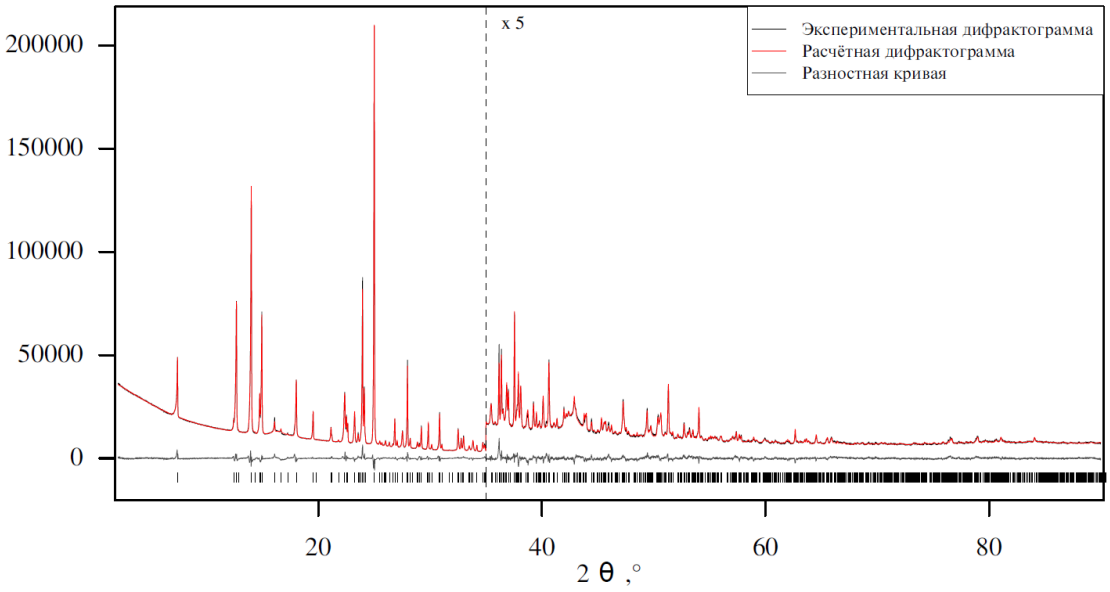


Рисунок 121. Экспериментальная, расчетная и разностная кривые для уточнения структуры ГМ-1 методом Ритвельда.

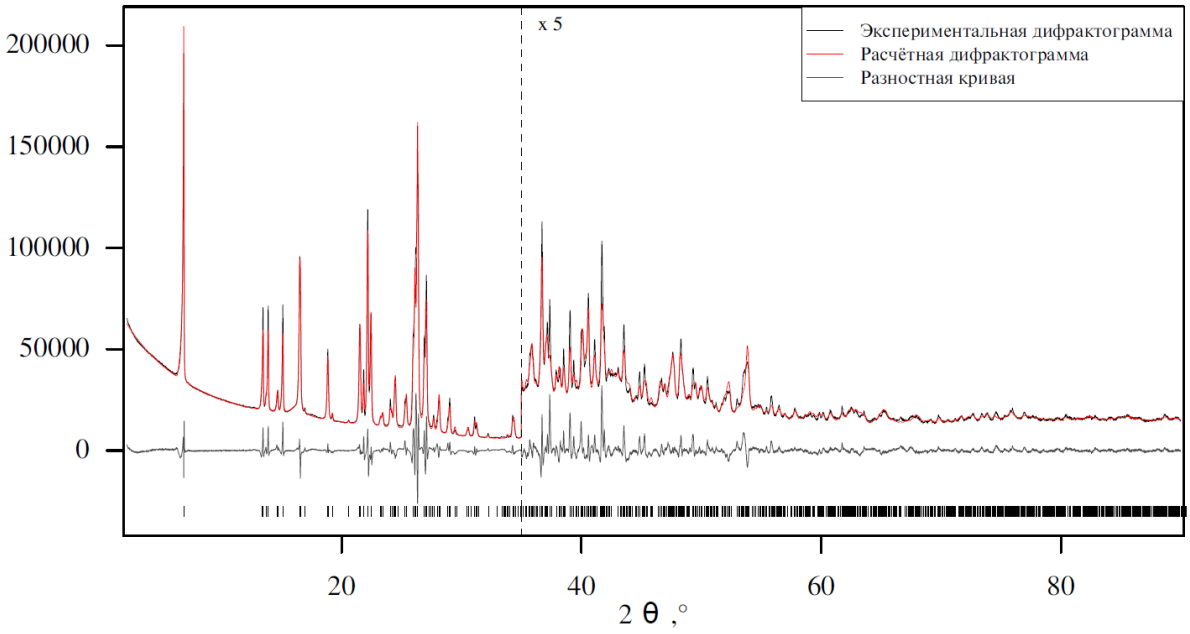


Рисунок 122. Экспериментальная, расчетная и разностная кривые для уточнения структуры ГМ-3 методом Ритвельда.

Дифрактограмма образца ГМЛ-1 была получена с помощью дифрактометра Bruker D8 Vario, оснащенным рентгеновской трубкой с медным анодом, Ge(111) монохроматором и позиционно-чувствительным детектором LynxEye в режиме съёмки «на просвет». Шаг съёмки 0.01° 2θ; интервал съёмки 5.0–90.0° 2θ.

Дифрактограмма была проиндицирована в моноклинной сингонии с помощью алгоритма SVD, реализованного в программном комплексе TOPAS4-2. На основании анализа систематических погасаний была выбрана пространственная группа P2/n. Объём элементарной ячейки составил 1747.85$Å^3$, что согласуется с Z'=1.

Определение структурного мотива проводили методом параллельной закалки, реализованным в программе FOX [583].

Уточнение полученной структурной модели методом Ритвельда проводили в программном комплексе TOPAS4-2 (рис. 123). Для описания фона использовали полином Чебышева 10 порядка, преимущественную ориентацию моделировали сферическими гармониками 4 порядка по Ярвинену. Форма линии описывалась набором фундаментальных параметров. Общий изотропный тепловой параметр уточнялся для каждого типа атомов. Атомы водорода помещались в геометрически рассчитанные положения и уточнялись в модели наездника. В процессе уточнения использовались ограничения на связи и валентные углы. В качестве источника ограничений использовали расчет кристалла. Рассчет в рамках теории финкционала плотности методом PAW-PBE с базисным набором плоских волн (cutoff 50 Ry) выполняли в программе Quantum Espresso [578]. В процессе уточнения вес ограничений понижали, для финальной структуры параметр K1=7. Параметры расходимости $R_p/R_{wp}/R_{bragg}$ составили 1.962/2.774/ 1.10 %. GoF = 3.3

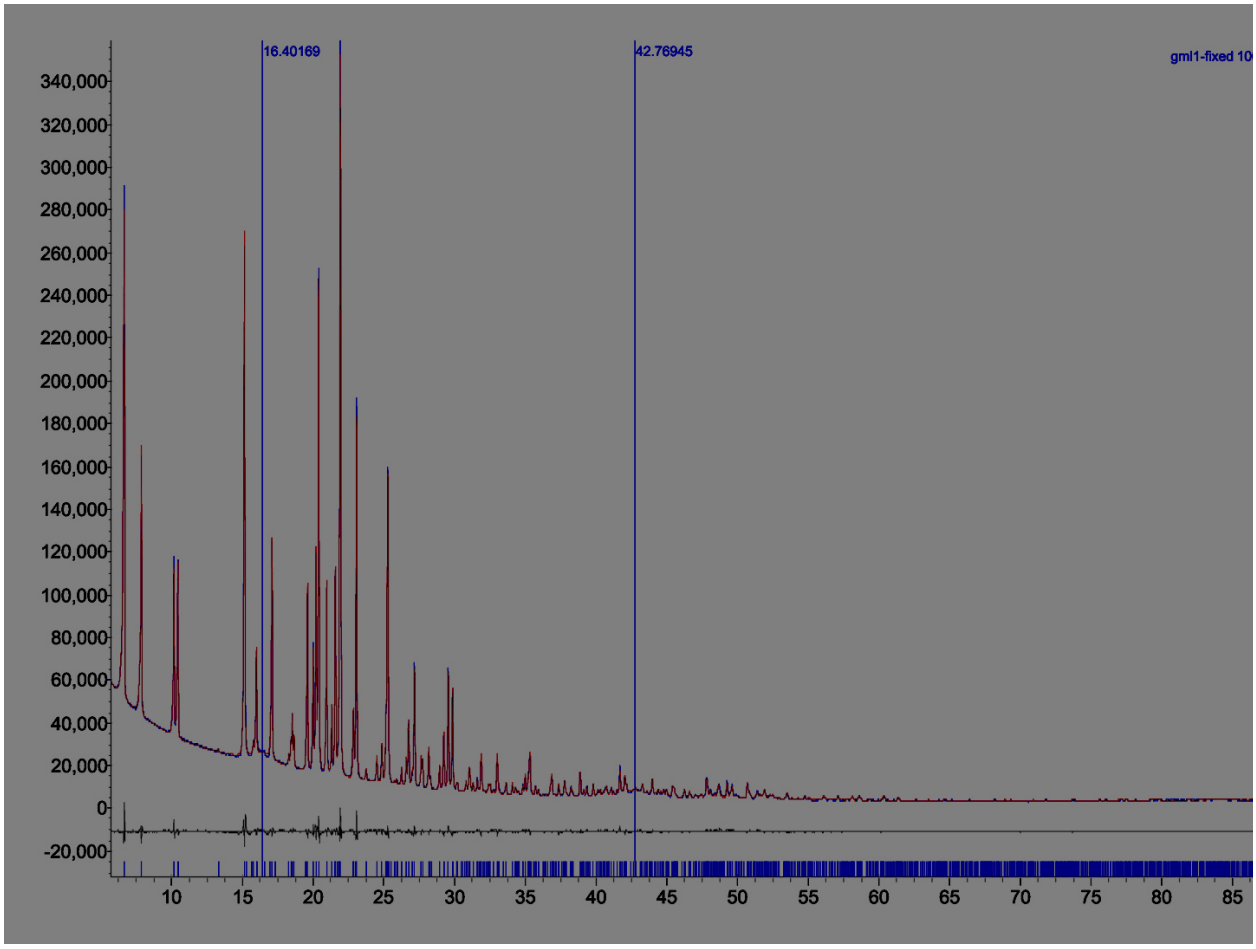


Рисунок 123. Уточнение структуры ГМЛ-1 методом Ритвельда. Синей линией изображена экспериментальная дифрактограимма, красной - расчетная, серой - разностная кривая. Вертикальными линиями изображены пики полимерной подложки.

Дифрактограмма образца ГМЛ-3 была получена с помощью дифрактометра Bruker D8 Vario, оснащенным рентгеновской трубкой с медным анодом, Ge(111) монохроматором в режиме съёмки «на пропускание». Шаг съёмки 0.01° 2θ; интервал съёмки 5.0–90.0° 2θ.

Дифрактограмма была проиндицирована в триклинной сингонии с помощью алгоритма SVD, реализованного в программном комплексе TOPAS4-2. На основании анализа систематических погасаний была выбрана пространственная группа P-1. Объём элементарной ячейки составил 1677.479Å^3, что согласуется с Z'=2.

Определение структурного мотива проводили методом симуляции отжига, реализованным в программе DASH. Из пяти запусков алгоритма результатом одного была кристаллографически адекватная структурная модель. Уточнение полученной модели методом Ритвельда проводили в программном комплексе TOPAS4-2 (рис. 124). Для описания фона использовали полином Чебышева 12 порядка, преимущественную ориентацию моделировали сферическими гармониками 4 порядка. Форма линии описывалась набором фундаментальных параметров. Общий изотропный тепловой

параметр уточнялся для каждого типа атомов. Атомы водорода помещались в геометрически рассчитанные положения и уточнялись в модели наездника. В процессе уточнения использовались ограничения на связи и валентные углы. Значения ограничений выставлялись в медианные значения по аналогичным соединениям из КБСД с помощью программы Mogul [584]. В процессе уточнения вес ограничений понижали, для финальной структуры параметр K1=7. Параметры расходимости $R_p/R_{wp}/R_{bragg}$ составили 3.02/4.353/1.65 %. GoF = 4.8

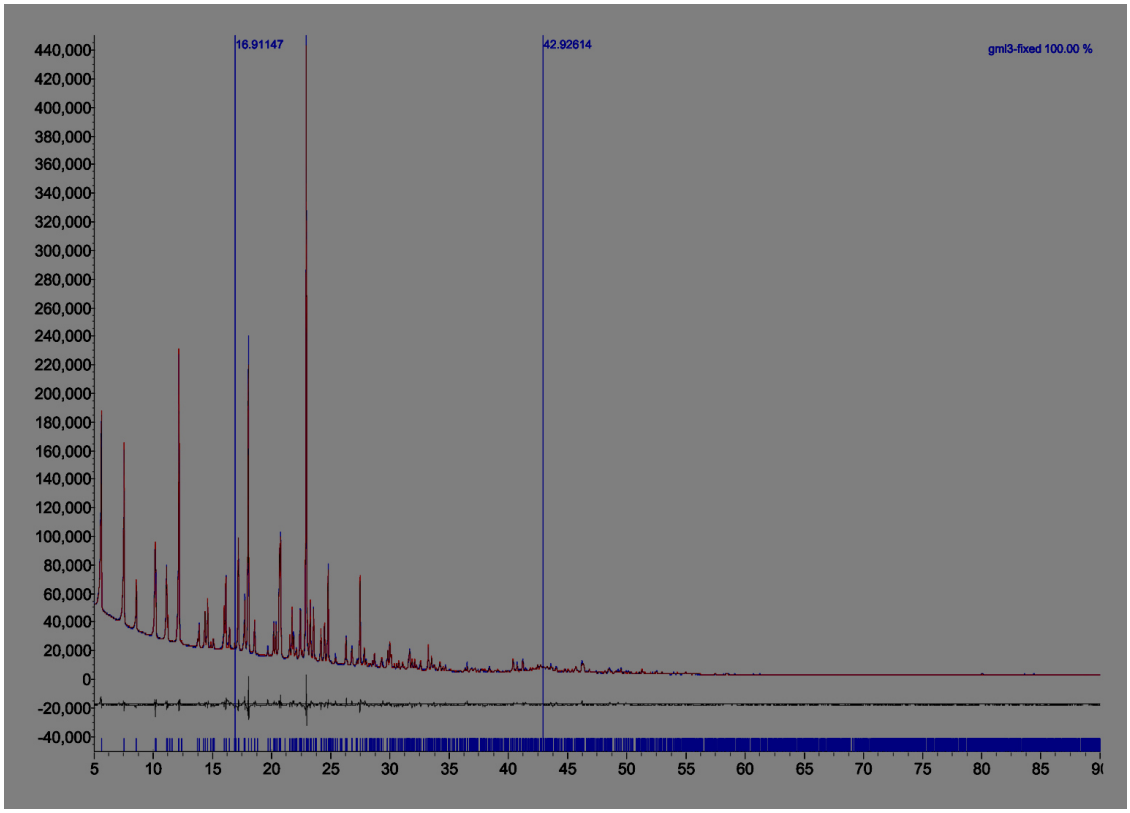


Рисунок 124. Уточнение структуры ГМЛ-3 методом Ритвельда. Синей линией изображена экспериментальная дифрактограимма, красной - расчетная, серой - разностная кривая. Вертикальными линиями изображены пики полимерной подложки.

1.1.4. Рентгеноструктурный эксперимент

Съемка кристалла оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она проводилась на кафедре кристаллохимии и кристаллографии МГУ им. М. В. Ломоносова на рентгеновском дифрактометре для анализа монокристаллов BRUKER D8 QUEST с микрофокусным рентгеновским источником (MoKa) при температуре 120 К. Параметры моноклинной ячейки: a=8.798 (a=90°), b=14.004 (b=94.659°), c=8.522 (g=90°), Z=4, R-Factor=6.81%.

3.2. Методы молекулярного моделирования

3.2.1. Молекулярный докинг

Молекулярный докинг проводили в программе Schrödinger Glide v8.1 (https://www.schrodinger.com/products/glide). Белки рецепторов были подготовлены с помощью Schrödinger Protein Preparation Wizard (https://www.schrodinger.com/science-articles/protein-preparation-wizard) с применением силового поля OPLS4 с использованием стандартного протокола, вода была удалена [587, 588]. Конформации лигандов рассчитывали в программе LigPrep (https://www.schrodinger.com/products/ligprep) с применением программы Epik для учета протонирования и таутомерных состояний при pH 7.0 ± 2.0 [589]. Генерация конформеров и оптимизация геометрии лигандов проводились с применением программы Confgen и силового поля OPLS4. Стыковку выполняли в программах Glide v8.1 и Glide v9.8 с применением метода XP (extra precision), обеспечивающего высокую точность вычислений, с использованием стандартных протоколов. Позы визуализировали в программах Maestro v11.8 и Maestro v13.5 (https://www.schrodinger.com/products/maestro). Для проверки протокола докинга рассчитывали среднеквадратичное отклонение положений атомов (RSMD) между исходными лигандами в белках и повторно состыкованным подготовленными лигандами в сетке.

Пространственные структуры белков и лиганд-белковых комплексов были взяты из PDB и из базы данных AlphaFold. В исследованиях использовались следующие структуры: транслокаторный белок 18 кДа (TSPO) в комплексе с селективным лигандом PK-11195 (PDB ID: 2MGY); кальциевый канал Cav1.2 (PDB ID: 5KMH); кальциевый канал Cav3.1 (PDB ID: 6KZP); натриевый канал Nav1.7 (PDB ID: 5EK0); калиевый канал Kv7.2 (PDB ID: 7CR2); $ГАМК_A$-рецептор (PDB ID: 6D6U); ГАМК-транспортер (GAT-1) (PDB ID: 7Y7Z); AMPA-рецептор (PDB ID: 5L1F); NMDA-рецептор (PDB ID: 7SAC); серотониновый рецептор $5\text{-}HT_{2A}$ (PDB ID: 6A93); серотониновый рецептор $5\text{-}HT_{2B}$ (PDB ID: 6DRY); мускариновый рецептор M2 (PDB ID: 5ZK8); дофаминовый рецептор D2 (PDB ID: 6CM4); синаптический везикулярный белок SV2A (AlphaFold ID: AF_Q7L0J3); σ1-рецептор (PDB ID: 6DK0); внеклеточная киназа ERK2 (PDB ID: 1WZY).

3.2.2. Фармакофорное моделирование

Фармакофорное моделирование проводилось в программе Phase Schrödinger (https://www.schrodinger.com/products/phase) с использованием библиотек известных лигандов. Для анализа соответствия молекул выявленным фармакофорным моделям использовалась специальная функция PhaseScore, которая комбинирует в себе меры

сходства по форме, фармакофорным компонентам и общей энергии анализируемых конформаций.

Сбор библиотек TSPO-лигандов, блокаторов кальциевых каналов L-типа (Cav1.2), натриевых каналов Nav1.5, калиевых hERG-каналов и Kv1.5-каналов, HCN-каналов, ингибиторов β1-адренорецепторов и рианодиновых RyR2-рецепторов, лигандов σ1-рецепторов осуществлялся с использованием баз данных ChEMBL (https://www.ebi.ac.uk/chembl/), BindingDB (https://www.bindingdb.org/), ZINC (https://zinc.docking.org/), Guide to Pharmacology (https://www.guidetopharmacology.org/), а также с использованием литературных данных.

3.2.3. ADMET-анализ

Параметры ADMET рассчитывали в программе QikProp v6.8 (Schrödinger) (https://www.schrodinger.com/products/qikprop). Среди ключевых оценивали следующие характеристики: молекулярный вес, дипольный момент, молекулярный объем, количество доноров и акцепторов водородных связей, ионизационный потенциал, параметры липофильности в различных системах, степень связываемости с белками плазмы крови, параметр проникновения через гематоэнцефалический барьер, аффинность к hERG-инному каналу, уровень проникновения через мембраны, соответствие “правилу 5” Липинского и “правилу 3” Йоргенсена, оральную биодоступность и ряд других. Токсикологические параметры оценивали с использованием программы ADMETlab 2.0 (https://admetmesh.scbdd.com/). Рассчитывали токсикологический риск соединений в тесте Эймса, острую токсичность у крыс, канцерогенный потенциал, воспалительные свойства по отношению к различным тканям и ряд других параметров.

3.3. Биологические эксперименты

3.3.1. *In vitro* радиолигандные исследования

Первая часть радиолигандных исследований была выполнена в компании Cerep Eurofins Discovery (Франция). Во всех случаях в качестве метода детекции радиометок использовался счетчик сцинтилляции. В таблице 34 приведены биомишени, использовавшиеся для анализа и основные характеристики радиолигандных исследований, также приведены ссылки на методики, в соответствии с которыми проводились эксперименты по радиолигандному анализу в отношении соответствующих биомишеней. Изучение лигандов TSPO осуществлялось в шести концентрациях (10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} М), в трех повторениях для каждой концентрации. Анализ аффинности в отношении $ГАМК_A$-рецептора осуществлялся в двух концентрациях (10^{-6}, 10^{-5} М), в двух

повторениях для каждой концентрации. Для остальных биомишеней исследования проводились в пяти концентрациях (10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5} М) в одном повторении.

Значения IC_{50} для лигандов TSPO определяли посредством нелинейного регрессионного анализа конкурентных кривых, полученных со средними повторными значениями с использованием аппроксимации кривой уравнения Хилла. Этот анализ был выполнен с использованием программного обеспечения, разработанного в Cerep (программное обеспечение Hill), и проверен путем сравнения с данными, полученными с помощью коммерческого программного обеспечения SigmaPlot_4.0 для Windows_ (_ 1997, SPSS Inc.). Константы ингибирования (Ki) рассчитывали по следующей формуле: $Ki = IC_{50}/(1 + [L]/K_D)$, где [L] и K_D — концентрация [^{3}H]-PK11195 и рассчитанная с помощью анализа Скэтчарда константа диссоциации PK11195, соответственно.

Таблица 34. Биомишени, в отношении которых проводились радиолигандные исследования соединений, представленных в работе

Рецептор	Тип анализа	Источник	Лиганд	Концентрация	Kd	Неспецифический лиганд	Инкубация	Ссылка
TSPO(h)	Антагонист радиолиганд	Человеческий эндогенный (U-118-MG)	[^{3}H]PK11195	0.2 нМ	5.3 нМ	PK11195 (10 мкМ)	15 мин Т.комн.	[590]
D1(h)	Антагонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки CHO)	[^{3}H]SCH 23390	0.3 нМ	0.2 нМ	SCH 23390 (1 мкМ)	60 мин Т.комн.	[591]
D2S(h)	Антагонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки HEK293)	[^{3}H]метилспиперон	0.3 нМ	0.15 нМ	(+)бутакламол (10 мкМ)	60 мин Т.комн.	[592]
D2S(h)	Агонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки HEK293)	[^{3}H]7-OHDPAT	1 нМ	0.68 нМ	бутакламол (10 мкМ)	60 мин Т.комн.	[592]
D3(h)	Антагонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки CHO)	[^{3}H]метилспиперон	0.3 нМ	0.085 нМ	(+)бутакламол (10 мкМ)	60 мин Т.комн.	[593]
5-HT1A(h)	Агонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки HEK293)	[^{3}H]8-OHDPAT	0.5 нМ	0.5 нМ	8-OH-DPAT (10 мкМ)	60 мин Т.комн.	[594]
5-HT2C(h)	Антагонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки HEK293)	[^{3}H]месулергин	0.5 нМ	0.5 нМ	RS 102221 (10 мкМ)	120 мин 37 град	[595]
ГАМК$_A$	Агонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{3}H]флунитразепам	0.4 нМ	2.1 нМ	Диазепам (3 мкМ)	60 мин 4 град	[596]
AMPA	Агонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{3}H]AMPA	8 нМ	82 нМ	L-глутамат (1 mM)	60 мин 4 град	[597]
L-Ca^{2+}-канал (сайт	Антагонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{3}H]нитредипин	0.1 нМ	0.18 нМ	нитредипин (1 мкМ)	90 мин Т.комн.	[598]

Рецептор	Тип анализа	Источник	Лиганд	Концентрация	Kd	Неспецифический лиганд	Инкубация	Ссылка
дигидропиридинов)								
L-Ca^{2+}-канал (сайт дилтиазема)	Антагонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{3}H]дилтиазем	15 нМ	52 нМ	дилтиазем (10 мкМ)	120 мин Т.комн.	[599]
L-Ca^{2+}-канал (сайт верапамила)	Антагонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{3}H]D888	3 нМ	3 нМ	D 600 (10 мкМ)	120 мин Т.комн.	[600]
N-Ca^{2+}-канал	Антагонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{125}I]ω-конотоксин GVIA	0.001 нМ	0.0007 нМ	ω-конотоксин GVIA (10 нМ)	30 мин Т.комн.	[601]
Na^+-канал	Антагонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{3}H]батрахотоксинин	0.3 нМ	91 нМ	вератридин (300 мкМ)	60 мин 37 град.	[602]
D-транспортер (h)	Антагонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки CHO)	[^{3}H]BTCP	4 нМ	4.5 нМ	BTCP (10 мкМ)	120 мин 4 град	[603]
ГАМК-транспортер	Антагонист радиолиганд	кора головного мозга крысы	[^{3}H]ГАМК	10 нМ	4600 нМ	ГАМК (1 мМ)	30 мин Т.комн.	[604]
5-НТ-транспортер (h)	Антагонист радиолиганд	Человеческий рекомбинантный (клетки CHO)	[^{3}H]имипрамин	2 нМ	1.7 нМ	имипрамин (10 мкМ)	60 мин Т.комн.	[605]

Радиолигандные исследования в отношении NMDA-рецептора, mGluII-рецептора, 5-HT_{2A}-рецептора, $ГАМК_A$-рецептора (с радиолигандом [^{3}H]SR 95531) и $ГАМК_B$-рецептора были выполнены в лаборатории радиоизотопных методов исследования ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (зав. лаб. д.м.н. проф. Г.И. Ковалев) в соответствии с протоколами, представленными в публкицациях [425, 426].

Радиолигандные исследования в отношении σ1-рецептора были выполнены в совместном исследовании с лабораторией фармакогенетики (зав. лаб. академик С.Б. Середенин) и лаборатории радиоизотопных методов исследования (зав. лаб. д.м.н. проф. Г.И. Ковалев) ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» в соответствии с протоколом, представленным в публкицации [606].

3.3.2. Оценка экспрессии генов

Оценку экспрессии генов рецепторных и регуляторных белков определяли в миокарде крыс в совместном исследовании лаборатории фармакологиии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» в соответствии с протоколами, представленными в публикации [541].

3.3.3. Электрофизиологические исследования

Электрофизиологические исследования по измерению мембранного потенциала и ионных токов проводили совместно с ФГБУН «Институт биофизики клетки» РАН методом локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации whole cell на нейроглиальной культуре клеток гиппокампа, выделенных из мозга новорождённых (P1-3) крыс породы Вистар, в соответствии с протоколами, представленными в публикации [539]. Проводилась оценка влияния АЛМ-802 на $К^+$- и Na^+-ионные токи.

3.3.4. Измерение концентрации ионов Ca^{2+}

Измерение концентрации цитозольного кальция проводили методом флуоресцентной микроскопии совместно с ФГБУН «Институт биофизики клетки» РАН в соответствии с протоколом, представленным в публикации [540].

3.3.5. Оценка нейропротекторной активности соединений ГМЛ-1 и ГМЛ-3

Для экспериментов использовались реактивы: H_2O_2 (Panreac), MTT (Sigma Aldrich), ДМСО (Panreac), среда ДМЕМ (HyClone), фетальная бычья сыворотка FBS (Gibco). Эксперименты проводились на клетках гиппокампа мыши линии HT-22 (Голландия, Утрехт). Клетки культивировали в среде ДМЕМ с добавлением 5 % FBS и 2 мМ L-глутамина при температуре 37°С в атмосфере, содержащей 5 % CO_2. Окислительный стресс моделировали путём внесения перекиси водорода в конечной концентрации 1,5 мМ [607]. Спустя 30 мин среду заменяли на обычную. Через 4 ч выполняли измерение жизнеспособности клеток. Жизнеспособность клеток измеряли с использованием МТТ-теста с добавлением 0,5% раствора бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолия (МТТ), для растворения образующихся кристаллов формазана использовали ДМСО. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Multiscan EX (Thermo, США) при длине волны 600 нм [608]. Исследуемые соединения (ГМЛ-1 и ГМЛ-3) растворяли в воде с добавлением 1% ДМСО (конечная концентрация ДМСО после внесения составляла 0,01%) и вносили за 24 ч до повреждения или сразу после смены среды в конечных концентрациях 10^{-6} – 10^{-9} М. В контрольные пробы также вносили ДМСО в конечной концентрации 0,01%. Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA). Данные представлены в виде m. ± s.d. Данные считались достоверными при $p \leq 0.05$.

3.3.6. *In vivo* исследования

3.3.6.1. Животные

Животные (мыши и крысы) получены из питомника лабораторных животных “Пущино” при филиале Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова. Организацию и проведение работ осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, и правилами, утвержденными комиссией по биоэтике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Животные содержались в условиях лабораторного вивария при температурном режиме 20-22°С, при световом цикле – 12 часов светлый и 12 часов темный периоды, 10-ти кратная смены объема воздуха комнаты в час, в пластмассовых клетках с верхней крышкой из нержавеющей стали с подстилкой, обеспыленной из деревянной стружки. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды (20-22°С и 30-70% относительная влажность) при постоянном доступе к корму и воде при использовании полного рациона экструдированного брикетированного корма (СП №2.2.1.3218-14 от 29 августа 2014 г.).

Животные были адаптированы в лаборатории в течение 7 дней до начала исследования. Во время этого периода осуществлялся ежедневный осмотр внешнего состояния животных и клинический осмотр до рандомизации. Животные с обнаруженными в ходе осмотра отклонениями не были включены в экспериментальные группы.

3.3.6.2. Влияние соединений на поведение мышей линии Balb/c в условиях эмоционально-стрессового воздействия в тесте «открытое поле».

В работе применена рекомендованная методика освещенного «открытого поля», при котором перенос животного из темноты на ярко подсвеченную арену создает, помимо реакции на новую остановку, дополнительный стрессирующий фактор, основанный на естественном стремлении грызунов избегать ярко освещенных мест [336]. В качестве тест-системы были использованы мыши инбредной линии Balb/c характеризующейся реакцией замирания в тесте ОП [337].

В исследовании использованы мыши-самцы инбредной линий Balb/c массой 19-25 г. Животные распределялись по группам рандомизированно, по критерию массы тела, с отклонением от среднего значения не более чем на ±10%. Перед опытом животных выдерживали в экспериментальной комнате в «домашних» клетках в течение 24 часов.

Для введения исследуемых соединений готовили их суспензию с Твин-80 и дистиллированной водой. Полученную смесь вводили мышам однократной в/б инъекцией.

Через 30 минут после в/б введения соединения животное сначала помещали на 1 мин в темную камеру, а затем – на один из периферических квадратов «открытого поля», которое представляет из себя белую круглую арену диаметром 1 метр с белыми бортами высотой 50 см. Освещение осуществляется бестеневыми лампами, расположенными в метре над поверхностью поля. Уровень освещенности составляет 3000 люкс. Все пространство арены равномерно разделено 4-мя концентрическими окружностями, которые в свою очередь разбиты радиусами на сектора так, что периферическая окружность состоит из 16 одинаковых криволинейных квадратов. Наблюдение за

животным производили в течение 3 минут, раздельно фиксировали число пересеченных квадратов на периферии (ПА), в центральных областях (ЦА), число заходов в центр (Ц), а также число вертикальных стоек (ВА) и количество дефекаций (Д). Суммарное число пересеченных квадратов вместе с числом вертикальных стоек обозначали как общую активность (ОДА). О наличии анксиолитического действия судили по выявлению активирующего эффекта на двигательную активность у животных с реакцией замирания в тесте ОП (линия Balb/c).

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA, критерий Краскела-Уоллиса) и непараметрический анализ для независимых переменных (U-критерий Манна-Уитни).

3.3.6.3. Влияние соединений на поведение мышей ICR в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Установка «приподнятый крестообразный лабиринт» для мышей выполнена из поливинилхлорида серого цвета и представляет собой две взаимопересекающиеся под прямым углом горизонтальные дорожки 65х5 см. Два противоположных отсека имеют непрозрачные вертикальные стенки высотой 15 см. Лабиринт приподнят от пола на 40 см. В месте перекрестья плоскостей находится открытая центральная платформа 5х5 см.

Эксперимент проводился в условиях дневного освещения. В начале тестирования животное помещалось в центр лабиринта, что давало возможность переместиться в темные, либо светлые рукава лабиринта – в зависимости от преобладания тревоги (боязнь высоты, открытого пространства) или исследовательской активности (что побуждало животное выходить из «защищенных» рукавов).

Исследуемые соединения вводили в/б аутбредным мышам ICR в виде суспензии с Твин-80 и дистиллированной водой.

Оценку поведения мышей в тесте ПКЛ проводили согласно Pellow и соавт. [341] через 30 мин после введения соединений. Фиксировали следующие показатели поведения животных в ПКЛ в течение 300 сек: время нахождения в открытых рукавах, время нахождения в закрытых рукавах, число заходов в открытые рукава, число заходов в закрытые рукава, пребывание (в %) животных в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах лабиринта и число заходов (в %) в открытые рукава по отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта. На каждый временной интервал использовали по 8 животных.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ (критерий Краскела-Уоллиса) и непараметрический анализ для независимых переменных (U-критерий Манна-Уитни).

3.3.6.4. Изучение антидепрессивной активности соединений в тесте «подвешивание за хвост»

Антидепрессивную активность соединений изучали в тесте «подвешивание за хвост» [342]. Эксперимент проводился на беспородных мышах-самцах CD-1 массой 20-24 г. Животные распределялись по группам рандомизированно, по критерию массы тела, с отклонением от среднего значения не более чем на ±10%. Перед опытом животных выдерживали в экспериментальной комнате в «домашних» клетках в течение 24 часов. В качестве препарата сравнения использовали антидепрессант амитриптилин в дозе 7.0 мг/кг.

Исследуемые соединения и амитриптилин готовились в виде суспензии с Твин-80 и дистиллированной водой и вводились однократной в/б инъекцией за 30 мин до начала тестирования. При анализе антидепрессивной активности соединений при субхроническом введении, введение проводили в течение пяти дней, в/б, каждый раз за 30 минут до эксперимента.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA, критерий Краскела-Уоллиса) и непараметрический анализ для независимых переменных (U-критерий Манна-Уитни).

В работе использовали установку фирмы PanLab (камера 51 см х х 25 см х 15 см, разделенная на три отсека), позволяющую обеспечить стандартные условия выполнения теста одновременно для трех животных. Животное подвешивали за хвост, после чего датчики-преобразователи в течение 6 минут регистрировали суммарное время неподвижности мыши, пытающейся избежать подвешивания. Снижение длительности иммобилизации у животных опытных групп по сравнению с контролем расценивалось как наличие антидепрессивных свойств у вещества.

3.3.6.5. Исследование ноотропной активности соединения ГМЛ-1 в тесте «распознавание нового объекта»

Ноотропную активность соединения ГМЛ-1 изучали в тесте «распознавание нового объекта» в условиях скополаминовой амнезии путем изучения влияния ГМЛ-1 на рабочую память беспородных крыс-самцов [355].

Перед началом эксперимента каждую крысу сажали в клетку Т4 с опилками, идентичную ее домашней клетке, и давали ей 5 мин для адаптации. В фазу ознакомления в два ближайших угла клетки помещали два одинаковых незнакомых для крысы объекта (герметично закрытые жестяные банки с жидкостью, объемом 0.33 л, оранжевого цвета). В течение 4 мин регистрировали время исследования крысой каждого объекта. Затем

объекты убирали. Перерыв между фазой ознакомления и тестом – 3 мин. При проведении теста в те же углы клетки помещали новую пару объектов, в которой один объект был идентичен объектам, предъявлявшимся в фазе ознакомления, а второй был незнакомым (стеклянная банка с жидкостью, герметично закрытая металлической крышкой, объемом 0,33 л, зеленого цвета). В течение 4 мин регистрировали время исследования знакомого и нового объектов. Позиции знакомого и нового объектов (правый и левый угол) меняли от животного к животному. Перед каждым тестом объекты протирали спиртом для уничтожения меток, оставленных предыдущим животным. Исследованием считали обнюхивание, когда нос животного находился на расстоянии не более 2 см от объекта.

Для оценки рабочей памяти крыс использовали коэффициент дискриминации (КД), который рассчитывали по формуле: КД=(а-б)/(а+б), где а – время исследования нового объекта во время теста (с), а б – время исследования знакомого объекта во время теста (с). Этот коэффициент отражает рабочую память крыс.

ГМЛ-1 в дозах 0.05, 0.1 и 0.5 мг/кг вводили в/б. В эксперименте использовали следующие группы: 1. Контрольная группа; 2. Группа «скополамин»; 3. Группа «ГМЛ-1 (0.05 мг/кг) + скополамин»; 4. Группа «ГМЛ 1 (0.10 мг/кг) + скополамин»; 5. Группа «ГМЛ-1 (0.50 мг/кг) + скополамин». В каждой группе использовали по 10 животных. Амнезию у крыс моделировали с помощью скополамина (0.20 мг/кг, подкожно). ГМЛ-1 вводили за 1 ч до скополамина. Через 30 минут после введения скополамина проводили тест распознавания нового объекта. Контрольным животным вместо скополамина вводили физиологический раствор и вместо ГМЛ-1 дистиллированную воду с Твин-80. Группе «скополамин» вводили вместо ГМЛ-1 дистиллированную воду с Твин 80.

Межгрупповые различия оценивали с помощью U теста Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.

3.3.6.6. Изучение противосудорожной активности

3.3.6.6.1. Оценка противосудорожного действия соединений на модели первично-генерализованных судорог, вызванных коразолом

Эксперименты проводили на белых беспородных мышах-самцах, массой 20-26 г. Каждая доза соединения исследовалась на 8-12 животных. Тест антагонизма с коразолом (пентилентетразол, Sigma-Aldrich, США) – антагонистом $ГАМК_A$ рецепторов является базисной методикой при оценке действия веществ с противосудорожной активностью [395].

В этой методике судороги вызываются химическим воздействием и моделируют первично-генерализованные судороги при так называемых «малых» (Petit mal)

судорожных припадках. Опытным группам животных в/б вводили исследуемые вещества, растворенные в физиологическом растворе или в физиологическом растворе с Твин80 за 40 минут до коразола. Препарат сравнения мексидол (субстанция) растворяли в физиологическом растворе и вводили в дозах 100 и 200 мг/кг в аналогичном режиме. Для создания коразоловых судорог животным подкожно в область шейного отдела спины вводился коразол (пентилентетразол) в дозе 95 мг/кг. Осуществляли регистрацию развития судорог и гибели животных в течение 30-120 мин. Эффективность соединений оценивалась по увеличению доли выживших мышей после введения коразола, а также по увеличению латентного периода первого генерализованного приступа с потерей рефлекса переворачивания (ЛП) относительно соответствующих контрольных групп.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и BioStat 2009 (Analyst Soft Inc.). Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев: Крускала-Уолиса и точного критерия Фишера.

3.3.6.6.2. Изучение противосудорожного действия соединений на модели первично-генерализованных судорог, вызванных максимальным электрошоком (МЭШ)

Эксперименты проводили на белых беспородных мышах-самцах, массой 22-26 г, полученных из питомника «Столбовая» ГУ НЦБМТ (Московская область).

Противосудорожное действие производных оксима дибензофуранона исследовали на моделях первично-генерализованных судорог, вызванных максимальным электрошоком (МЭШ), моделирующим так называемые «большие» (Grandmal) судорожные припадки [395–397].

Электросудорожный припадок (МЭШ) создавали с использованием сертифицированной установки «Rodent Shocker RS», type 221 (Harvard Apparatus, GmbH, Германия). Животные через специальные корнеальные электроды получали электрические стимулы (**режим 1**: 250 V, 11 mA, длительность 0.2 с; **режим 2**: 250 V, 11 mA, длительность 0.3 с; **режим 3**: 250 V, 12 mA, длительность 0.3 с; **режим 4**: 250 V, 9 mA, длительность 0.3 с; **режим 5**: 250 V, 10 mA, длительность 0.3 с). Регистрировали следующие показатели: клонические судороги, тоническую экстензию задних и передних конечностей и гибель животных. Противосудорожный эффект заявляемых соединений оценивали по способности предотвращать гибель животных, по способности предотвращать тоническую экстензию относительно соответствующих контрольных групп, а также по балльной шкале: 0 баллов – нет судорожных реакций, 1 балл – клонические судороги без потери рефлекса переворачивания, 2 балла – клонические

судороги с потерей рефлекса переворачивания, 3 балла – тонические судороги, 4 балла – тонические судороги заканчивающиеся гибелью животного. Исследуемые водорастворимые соединения растворяли в физиологическом растворе, а водонерастворимые вещества растворяли в физиологическом растворе с Твин 80 и вводили внутрибрюшино (в/б) за 40 минут до проведения МЭШ. Препарат сравнения вальпроевая кислота (субстанция, Sigma) растворяли в физиологическом растворе и вводили в дозе 150-200 мг/кг в аналогичном режиме. Животным контрольных групп вводился физиологический раствор.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и BioStat 2009 (Analyst Soft Inc.). Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев: Крускала-Уолиса и точного критерия Фишера.

3.3.6.7. Изучение противогипоксического действия соединений на модели гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме, модели баночной гипоксии

Каждая доза соединения исследовалась на 8-10 животных. Противогипоксическое действие соединений изучали на модели гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме, модели баночной гипоксии [403, 404]. Животных помещали в банку объемом 250 мл, плотно закрытую крышкой, герметично зафиксированную парафиновой пленкой. Продолжительность жизни животных фиксировали до последнего агонального вздоха с помощью секундомера.

Опытным группам животных в/б вводили исследуемые вещества, растворенные в физиологическом растворе с Твин80 за 40 минут до теста. Препарат сравнения мексидол (субстанция) растворяли в физиологическом растворе и вводили в дозах 100 и 200 мг/кг в аналогичном режиме. Эффективность соединений оценивалась по увеличению времени жизни животного относительно соответствующих контрольных групп.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и BioStat 2009 (Analyst Soft Inc.). Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев: Крускала-Уолиса и точного критерия Фишера.

3.3.6.8. Изучение противоишемических свойств соединений на модели глобальной ишемии, модели ишемического инсульта.

Эксперименты проводились на крысах самцах, весом 240-260 г согласно «Руководству по проведению доклинических исследований» [405].

Каждая группа содержала от 8 до 29 животных. Для моделирования ишемического инсульта (ИИ) у крыс, наркотизированных хлоралгидратом (350 мг/кг, в/б), проводили одномоментную двустороннюю перевязку общих сонных артерий до места бифуркации (модель глобальной ишемии). Для этого у крыс в области шеи делали разрез кожи с последующим извлечением 2-х сонных артерий и отделением их от блуждающего нерва. Далее сонные артерии одномоментно перевязывали шелковой лигатурой и ушивали рану. Для ложнооперированных животных (ЛО) проводили аналогичные операционные манипуляции, но без перевязки сонных артерий. Исследуемые соединения растворяли в физиологическом растворе с Твин-80 и вводили через 2 – 3 часа после операции в дозе 10 мг/кг и далее один раз в сутки в течение 6 дней. Контрольным группам с ИИ (№1, 2) и ЛО вводили физиологический раствор с Твин-80 в эквивалентном объеме. Препарат сравнения мексидол (100 мг/кг) растворяли в физиологическом растворе. Контрольной группе №3 вводили эквивалентный объем растворителя. Выживание животных после операции и развитие неврологического дефицита (Stroke-index McGrow в модификации Ганушкиной (Ганушкина, 1998)) регистрировали в течение 14 дней: 0- (7-8 часов после операции), 1- (через 24 часа), 2-, 3-, 7- и 14-е сутки после операции.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и BioStat 2009 (Analyst Soft Inc.). Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев: Крускала-Уолиса и точного критерия Фишера.

3.3.6.9. Изучение ноотропного действия производных 4-фенилпирролидона в тесте пространственной памяти в водном лабиринте Морриса.

Исследование влияния веществ на процессы обучения и памяти проводили в эксперименте на белых беспородных мышах массой 23-26 г в водном лабиринте Морриса [409] в модификации Frick [410], когда животное обучается избеганию принудительного плавания путем нахождения платформы. В исследовании была использована сертифицированная установка TS1004-M2 «Водный лабиринт (тест) Морриса» для крыс и мышей ООО «НПК Открытая Наука». Бассейн для воды изготовлен из полипропилена и установлен на стальную подставку с регулируемыми опорами. Цвет бассейна белый. Размеры бассейна: диаметр арены – 150 см, высота стенок – 60 см, диаметр платформы – 10 см. Платформа (остров), регулируется по высоте, выполнена из белого акрила с металлическим утяжелителем. Бассейн наполняли водой комнатной температуры (24±2), забеленной молоком на 40 см. Бассейн зрительно делился на 4 сектора и в одном и том же секторе (называемом «целевым») помещалась платформа.

Исследуемые вещества вводили в/б за 30 минут до начала эксперимента трижды: в первый и во второй дни обучения и перед воспроизведением навыка.

Регистрировали время, в течение которого животное находилось в квадранте, где в дни обучения располагалась платформа, что служило показателем эффективности обучения и воспроизведения пространственного навыка.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ (критерий Краскела-Уоллиса с переходом на множественные сравнения).

3.3.6.10. Изучение кардиотропной активности

3.3.6.10.1. Определение острой токсичности (LD_{50}) соединений

Эксперименты выполнены на беспородных белых мышах-самцах массой 21-24 г. Острую токсичность каждого соединения определяли в шести-девяти различных дозах, количество животных в каждой серии 6. В качестве растворителя использовали стерильный изотонический 0,9% раствор натрия хлорида. Летальность животных оценивали через 24 часа после в/б введения изучаемых соединений. По методу Литчфилда-Уилкоксона рассчитывали LD_{16}, LD_{50} и LD_{84} с их доверительными 95% интервалами.

3.3.6.10.2. Модель аконитиновой аритмии

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 160-180 г в соответствии с описанными протоколами [609, 610]. Животные были рандомизированы на группы по 6-11 крыс. Животным основных групп за 2 минуты до в/в инъекции аконитина вводили (в 0,2-0,3 мл апирогенной воды для инъекций) исследуемые соединения. Контрольным животным по аналогичной схеме вводили 0,3 мл апирогенной воды для инъекций. Наркотизированных животных (уретан 1300 мг/кг, в/б) фиксировали в положении на спине на подогреваемом операционном столике (Kent Scientific Corporation, США). Левую бедренную вену катетеризировали для введения аконитина гидрохлорида и изучаемых соединений. Перед началом эксперимента у животных регистрировали ЭКГ (стандартные отведения, калибровочный сигнал 20 мВ, скорость записи 50 мм/сек, продолжительность записи 60 секунд). В качестве регистратора использовали компьютерный электрокардиограф «Поли-Спектр 8/В» (Россия). Затем подбирали дозу аконитина гидрохлорида (n=31, в/в, болюсом), которая во всех экспериментах в пределах 1-2 минут после окончания его введения вызывает политопную предсердно-желудочковую экстрасистолию; величина подобранной дозы 30-50 мкг/кг. После подбора дозы аконитина гидрохлорида, во всех сериях экспериментов изучаемые соединения

вводили в/в (в 0,2-0,3 мл) за 2 минуты до введения аконитина гидрохлорида. Непрерывную регистрацию ЭКГ начинали за 2 минуты до начала введения аконитина гидрохлорида или исследуемых соединений и продолжали в течение 20 минут от момента окончания в/в введения аконитина гидрохлорида. Перед началом каждой из серии экспериментов в тестовом режиме на 3-5 животных оценивали (подтверждали) ранее выбранную аритмогенную дозу аконитина гидрохлорида.

Статистическую обработку данных, измеренных в бинарной шкале, проводили с помощью метода точной вероятности Фишера с учетом множественности сравнений. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

3.3.6.10.3. Модель хлоридкальцевой аритмии

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 250-320 г в соответствии с описанными протоколами [609, 610]. Животные были рандомизированы на группы по 6-12 крыс. Животным основных групп за 2 минуты до инъекции хлорида кальция в/в вводили (в 0.2-0.3 мл апирогенной воды для инъекций) исследуемые соединения. Контрольным животным по аналогичной схеме вводили 0.3 мл апирогенной воды для инъекций.

Наркотизированных животных (уретан 1300 мг/кг, в/б) фиксировали в положении на спине на подогреваемом операционном столике (Kent Scientific Corporation, США). Левую бедренную вену катетеризировали для введения хлорида кальция и изучаемых соединений. Перед началом эксперимента у животных регистрировали ЭКГ (стандартные отведения, калибровочный сигнал 20 мВ, скорость записи 50 мм/сек, продолжительность записи 60 секунд). В качестве регистратора использовали компьютерный электрокардиограф «Поли-Спектр 8/В» (Россия). Затем подбирали дозу хлорида кальция (n-17, в/в, болюсом), которая во всех экспериментах в пределах 1-2 минут после окончания его введения вызывает фибрилляцию желудочков сердца; величина подобранной дозы – 200-250 мг/кг. После подбора дозы хлорида кальция во всех сериях экспериментов изучаемые соединения вводили в/в за 2 минуты до введения хлорида кальция. Непрерывную регистрацию ЭКГ начинали за 2 минуты до начала введения хлорида кальция или исследуемых соединений и продолжали в течение 20 минут от момента окончания в/в введения хлорида кальция.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью метода точной вероятности Фишера с учетом множественности сравнений. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

3.3.6.10.4. Модель реперфузионных аритмий

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах массой 200-380 г в соответствии с описанными протоколами [609, 610]. Наркотизированных животных (уретан 1300 мг/кг, в/б) фиксировали на операционном подогреваемом столике Surgi Suite (Kent Scientific Corporation, США) в положении на спине. Для введения изучаемых соединений катетеризировали бедренную вену. Затем животных переводили на искусственное дыхание, вентиляцию осуществляли аппаратом искусственной вентиляции легких для мелких животных (Ugo Basele, Италия). Далее производили тороко- и перикардотомию и под левую нисходящую коронарную артерию сразу же после ее выхода из-под ушка подводили лавсановую лигатуру. Ишемию миокарда вызывали одномоментной перевязкой коронарной артерии. Через 7 минут лигатуру снимали. Оценивали наличие/отсутствие фибрилляции желудочков сердца в течение 3-х минут от момента начала реперфузии. Животные, у которых не происходило восстановления кровотока в ишемизированной зоне, исключались из эксперимента. Регистрацию ЭКГ начинали за минуту до перевязки коронарного сосуда и продолжали в течение всего эксперимента. Для мониторинга, регистрации и обработки ЭКГ использовали компьютерный электрокардиограф «Полиспектр 8/ЕХ» (Нейрософт, Россия).

Животные были рандомизированы в группы, которым вводились исследуемые вещества, в группу препарата сравнения верапамил и в контрольные группы. Количество животных в группах составляло от 8 до 16. Животным контрольных групп за 5 минут до начала реперфузии в/в вводили эквивалентный объем (1 мл/кг) изотонического 0.9% раствора натрия хлорида, а животные опытных групп по аналогичной схеме в/в получали исследуемые соединения или препарат сравнения. Для оценки антиаритмического эффекта в каждой группе подсчитывали количество животных, у которых развивались и у которых отсутствовали жизнеугрожающие аритмии, фибрилляция желудочков.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью метода точной вероятности Фишера с учетом множественности сравнений. Различия считали значимыми при $p \leq 0.05$.

3.3.6.10.5. Модель электрической фибрилляции желудочков сердца

Опыты проводили на анестезированных (уретан, 1300 мг/кг, в/б) беспородных крысах-самцах массой тела 380-420 г. После интубации животных переводили на искусственное дыхание кислородно-воздушной смесью; производили стернэктомию и перикардотомию. В миокард левого желудочка сердца на расстоянии 3-5 мм друг от друга имплантировали два позолоченных электрода. Порог электрической фибрилляции сердца определяли сканированием уязвимого периода серией из 20 прямоугольных импульсов

постоянного тока увеличивающейся интенсивности (длительность импульса 4 мс, частота 50 имп/с) до возникновения фибрилляции. За порог фибрилляции принимали минимальную силу тока, стабильно вызывающую фибрилляцию желудочков при повторной стимуляции. В опыт отбирали только тех животных, у которых фибрилляция желудочков наступала при силе тока не более 6 мА. В работе использовали электростимулятор HSE Stimulator II (Hugo Sach Electronik, Германия). В течение всего эксперимента регистрировали ЭКГ (II стандартное отведение). В качестве регистратора использовали электрокардиограф ЭК 4Т-02 (Россия). Визуальный контроль регистрируемых параметров в течение всего эксперимента производили при помощи 4-канального осциллоскопа фирмы Elema-Simiens (Швеция). Исследуемые соединения (в/в) вводили за 5 минут до определения порога электрической фибрилляции желудочков сердца.

3.3.6.10.6. Модель субэндокардиальной ишемии у крыс, вызываемой изопротеренолом

Эксперименты выполнены на наркотизированных (уретан 1300 мг/кг в/б) беспородных белых крысах-самцах массой 220-250 г в соответствии с описанным протоколом. Животные были рандомизированы на группы по 7-12 крыс. Острую эндокардиальную ишемию миокарда вызывали по методу, описанному S. Yamamoto с соавторами [611].

Для этой цели животным с помощью инъектора «Линеомат» (Россия) в/в со скоростью 20 мкг/кг/мин вводили неселективный агонист β-АР изопротеренол. Об интенсивности ишемического повреждения судили по величине депрессии сегмента ST на ЭКГ (II стандартное отведение) через 5 минут от момента начала инфузии изопротеренола. ЭКГ регистрировали с помощью компьютерного электрокардиографа «Полиспектр 8/ЕХ» (Нейрософт, Россия). Все исследуемые соединения вводили в/в за 2 минуты до начала инфузии изопротеренола в 0.3 мл изотонического раствора натрия хлорида. Животные контрольной группы получали эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида. В качестве препарата сравнения использовался верапамил в дозе 1 мг/кг.

При статистической обработке данных нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий – с помощью критерия Левена. Так как результаты имели нормальное распределение и выборочные дисперсии были гомогенны, для определения значимости различий использовали однофакторный дисперсионный анализ с последующей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. Полученные результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок.

Выводы

1. Сконструированы новые лиганды 18 кДа транслокаторного белка TSPO на базе пирроло[1,2-*a*]пиразинового скэффолда с использованием методов фармакофорного моделирования, молекулярного докинга и ADMET-оптимизации.
2. Разработаны методы синтеза новых лигандов TSPO, относящихся к группе 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксиамидов, с использованием в качестве ключевой стадии реакции [3+3]-циклоприсоединения производных 2-азидоакриловой кислоты к пирроларилкетонам. Получена библиотека из 30 соединений новой группы.
3. В ряду полученных производных пирроло[1,2-*a*]пиразинов в экспериментах *in vivo* на грызунах выявлены вещества с анксиолитической, антидепрессивной, ноотропной и нейропротекторной активностью (0.1-5.0 мг/кг, в/б, п/о). Выполнен анализ связи «структура-активность», в результате чего были отобраны соединения-лидеры ГМЛ-1 и ГМЛ-3 для дальнейшей разработки. Доказано, что фармакологические эффекты веществ ГМЛ-1 и ГМЛ-3 зависят от взаимодействия с сайтом связывания белка TSPO и от нейростероидогенеза. Разработан лабораторный регламент получения субстанции ГМЛ-1.
4. Методом фармакофорного моделирования осуществлен дизайн нескольких новых групп гетероциклических соединений с потенциальной противосудорожной активностью: производных бензоилпиридинов, 4-фенилпирролидона с дополнительными потенциальными ноотропными свойствами, гексагидродибензофуранона с дополнительными потенциальными антиишемическими свойствами, кумарина, тиокумарина и хинолин-2-она.
5. Разработаны методы синтеза сконструированных веществ с потенциальными противосудорожными свойствами на базе оксимов бензоилпиридинов, оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она, 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты, кумаринов, 1-тиокумаринов и хинолин-2-онов. Получены библиотеки соединений этих групп (от 5 до 15 веществ в каждой подгруппе).
6. Во всех полученных группах гетероциклических веществ в экспериментах *in vivo* на грызунах выявлены соединения, обладающие противосудорожной активностью (1.5-150 мг/кг, в/б). Среди производных оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она обнаружены соединения с антиишемическими свойствами, а в группе производных 4-фенилпирролидона – с ноотропной активностью. Определены связи «структура-активность», позволившие

отобрать соединения-лидеры для дальнейшей разработки: аминоалкильное производное оксима 4-бензоилпиридина ГИЖ-298; циннамоильное производное оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2*H*)-она ГИЖ-272 с антиишемическими свойствами; анилид 4-фенил-2-оксопирролидин-1-уксусной кислоты ГИЖ-290 с ноотропным компонентом действия. Разработан проект лабораторного регламента получения субстанции ГИЖ-298. Для веществ, показавших наличие противосудорожных свойств, проведено мультидокинговое исследование с использованием основных терапевтических биомишеней эпилепсии. Определены спектры наиболее вероятных мишеней для каждой подгруппы соединений. Некоторые из этих мишеней подтверждены экспериментально.

7. Предложена и доказана оригинальная гипотеза создания потенциальных мультитаргетных кардиотропных средств на основе универсального биароматического фармакофора. Определены расчетные фармакофорные модели восьми основных классов биароматических кардиопротекторов. В рамках предложенной рабочей гипотезы сконструировано несколько групп биароматических производных азаалканов в качестве потенциальных кардиопротекторов.
8. Разработаны методы синтеза нескольких групп предложенных биароматических ди- и триазаалканов, получены их библиотеки (44 соединения).
9. В экспериментах *in vivo* на грызунах выявлены вещества с антиаритмической и антиишемической активностью практически во всех полученных группах соединений (1.0-10.0 мг/кг, в/в). Сочетание эффективности веществ в различных моделях аритмии и ишемии соответствовало их предполагаемым мультитаргетным механизмам действия. Определены связи «структура-активность», позволившие отобрать соединение лидер АЛМ-802 для дальнейшей доклинической разработки. Для АЛМ-802 экспериментально подтверждены несколько биологических мишеней, что подтвердило гипотезу о его мультитаргетности. Разработан проект лабораторного регламента получения субстанции АЛМ-802.

Практические рекомендации

В результате исследования получена серия биологически-активных соединений, некоторые из которых были отобраны для расширенных доклинических исследований. В частности, в ряду лигандов TSPO с пирроло[1,2-*a*]пиразиновым ядром был создан быстрый и безопасный потенциальный анксиолитик ГМЛ-1, свободный от спектра побочных эффектов бензодиазепинов. В группе бензоилпиридинов было выявлено потенциальное противосудорожное средство ГИЖ-298. Среди производных 4-фенилпирролидона отобрано соединение ГИЖ-290, сочетающее антиэпилептическое и ноотропное действие, а в группе *O*-замещенных оксимов гексагидродибензофуранов выявлено соединение ГИЖ-272, сочетающее противосудорожную, антиишемическую и антигипоксическую активность. В ряду биароматических структур был найден мультитаргетный кардиопротектор АЛМ-802, сочетающий антиаритмическое и антиишемическое действие, эффективный в модели хронической сердечной недостаточности.

Полученные в исследовании данные открывают перспективу для последующего внедрения сконструированных, синтезированных и фармакологически изученных оригинальных соединений в клиническую практику для лечения таких заболеваний, как генерализованные тревожные расстройства, депрессия, эпилепсия различных подтипов, аритмия и хроническая сердечная недостаточность.

Список сокращений

3α-HSD	3α-гидроксистероиддегидрогеназа
3β-HSD	3β-гидроксистероиддегидрогеназа
ΔΨm	Митохондриальная поляризация
ACBD1	acyl-CoA binding domain 1; другое название – DBI, ингибитор связывания диазепама
ACBD3	acyl-CoA binding domain 3; другое название – PAP7, PBR-associated protein; белок, ассоциированный с TSPO
ADMET	Adsorption, distribution, metabolism, elimination, and toxicity; Адсорбция, распределение, метаболизм, выведение и токсичность
AMPA	Рецептор α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты
ATAD3A	AAA+ АТФаза, белок, формирующий контакт внешней и внутренней митохондриальной мембран
$AUC_{0\rightarrow\infty}$	Площадь под фармакокинетической кривой от момента введения аналита до бесконечности
β-AP	β-адренорецепторы
BDNF	Нейротрофический фактор головного мозга
C_0	Кажущаяся C_{max} лекарственного вещества в плазме крови
CA	Карболнилангидраза
Cavx.y	Потенциал-зависимые кальциевые каналы, изоформа x.y
CCK4	Тетрапептид холецистокинина
CiPA	Комплексный анализ проаритмии *in vitro*
CHO	Клетки яичника Китайского хомячка
Cl, Cl/F	Общий плазменный клиренс
C_{max}	Максимальная концентрация лекарственного вещества в плазме крови после введения
CoMFA	Comparative molecular field analysis; сравнительный метод анализа молекулярного поля
COSY	Гомоядерная корреляционная спектроскопия
COVID-19	Пандемия короновируса 2019 г
CRAC-домен	Cholesterol recognition amino acid consensus; аминокислотный участок, распознающий холестерин
CypD	Циклофилин D
CYP11A1	Цитохром P450scc
CYP46A1	Холестерин 24-гидроксилаза
DAR	Distal aryl ring; дистальная ароматическая группа
Dx	Дофаминовый рецептор подтипа x
DBI	Ингибитор связывания диазепама
DMSO (ДМСО)	Диметилсульфоксид
DS	Docking score; Скоринг функция, определяющая энергию взаимодействия «лиганд-рецептор»
$f_{абс}$	Абсолютная биодоступность лекарственного вещества
EC	Эффективная концентрация
EMEA	Европейское агентство по оценке лекарственных препаратов

EPD	Electrons pare donor; донор электронной пары
ERKx	Киназа, регулируемая внеклеточными сигналами, подтипа x
FDA	Food and Drug Administration; Управление по контролю за продуктами и лекарствами США
FRA	Freely rotating aromatic ring region; область свободного вращения ароматического кольца
f_T	Тканевая биодоступность лекарственного вещества
$GABA_A$	$ГАМК_A$-рецептор, рецептор γ-аминомасляной кислоты типа А
GABA-AT	ГАМК-аминотрансфераза
GABA-t	ГАМК-трансаминаза
GAT-1	ГАМК-транспортер 1-го типа
GSK3β	Киназа гликогенсинтазы-3 бета
GPER1	Рецептор эстрогена 1, связанный с G-белком
HA	Акцептор водородной связи
HABs	High-affinity binders; особи с высоким сродством к TSPO
HBA; HBD	Hydrogen bonding area/domain; область водородных связей
HBS/HPB	Hydrophobic site/domain; сайт гидрофобного взаимодействия
HCN	Циклически-нуклеотид-управляемый канал, активируемый гиперполяризацией
HD	Донор водородной связи
HEK	Клетки почки эмбриональна человека
hERG	Канал, кодируемы геном «human ether-a-go-go-related gene»
HHS/PKS	Hydrophobic-Hydrophilic site; гидрофобный или гидрофильный сайт
HRMS	Масс-спектры высокого разрешения
HSQC	Гетероядерная одноквантовая корреляционная спектроскопия
$5\text{-}HT_{ny}$	Серотониновые рецепторы подтипа ny
IC_{50}	Полу-максимальная ингибирующая концентрация
I_{CaL}	Кальциевый ток L-типа
I_{CaT}	Кальциевый ток T-типа
ID	Идентификатор
I_f	«Забавный» ток, электрический ток в сердце, протекающий по каналу HCN
IFM	Изолейцин-фенилаланин-метионин
I_K	Калиевый ток
I_{Kr}	Быстрый калиевый ток задержанного выпрямления
IMM	Inner mitochondrial membrane, внутренняя мембрана митохондрии
I_{Na}	Натриевый ток
$I_{Na,early}$	Ранний натриевый ток
$I_{Na,late}$	Поздний натриевый ток
JNK	c-Jun N-концевые киназы
K_B, K_D	Константа диссоциации
k_{el}	Константа скорости элиминации

Ki	Константа ингибирования
Kvx.y	Потенциал-зависимый калиевый канал, изоформа x.y
LA	Lipophilic area; липофильная область
LABs	Low-affinity binders; особи с низким сродством к TSPO
LD_{50}	Полулетальная доза
LogBB	Уровень проникновения веществ через гематоэнцефалический барьер
LogP	Липофильность на разделе фаз октанол/вода
LPD	Неподеленная пара электронов
LQT3	Синдром удлиненного QT интервала с мутацией гена *SCN5A*
mGlux	Метаботропный глутаматный рецептор подтипа x
mPTP	Митохондриальная пора
Nav1.x	Потенциал-зависимый натриевый канал, изоформа 1.x
Mx	Мускариновый рецептор подтипа x
MABs	Mixed-affinity binders; особи со смешанным сродством к TSPO
Me	Медиана
MRT	Среднее время удерживания лекарственного вещества в организме
NMDA	*N*-метил-D-аспартатный рецептор
NOESY	Спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера
ODN	Octadecaneuropeptide; октадеканейропептид
OMM	Outer mitochondrial membrane, внешняя мембрана митохондрии
OPR	Out-plane region; область вне плоскости
Pa	Вероятность наличия активности в программе PASS
PAP7	PBR-associated protein, ассоциированный с ПБР протеин
PAR	Planar aromatic region; плоская ароматическая область Proximal aryl ring; проксимальная ароматическая группа
PDB	Protein Data Bank; структурный банк данных биомолекул
Pi	Вероятность отсутствия активности в программе PASS
PKA	цАМФ-зависимая протеинкиназа А
PKA-Riα	Регуляторная субъединица Iα cAMP-зависимой протеинкиназы А
PTZ	Pentylenetetrazole antagonism test, тест антагонизма с коразолом
QSAR	Quantitative Structure – Activity Relationship; Количественная оценка связи структура-активность
RSMD	Среднеквадратичное отклонение положений атомов
RyRx	Рианодиновый рецептор подтипа x
StAR	Steroidogenic acute regulatory protein; Стероидогенный острый регуляторный белок
SV2A	Синаптический везикулярный белок подтипа 2A
$t_{1/2}$, $t_{1/2el}$	Период полувыведения
TdP	Torsade de Pointes
T_{max}	Время достижения максимальной концентрации лекарственного вещества в плазме крови после в/ж введения
TrkB	Тирозин-киназа B

TRVP1	Ванилоидный рецептор 1 типа
TSPO	Транслокаторный белок массой 18 кДа
TTN	Triakontatetraneuropeptide; триаконтатетронейропептид
V_d, V_d/F	Кажущийся объем распределения
VDAC	Voltage-Dependent Anion Channel; Вольт-зависимый аннионный канал
WT	wild type; дикого типа
АВ	Атриовентрикулярный
АД	Артериальное давление
БСЛ	Биароматические соединения с линкером
ВА	Вертикальная активность
в/б	Внутрибрюшинное введение
в/в	Внутривенное введение
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВПС	Высокопроизводительный скрининг
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ВЭЖХ-МС/МС	Высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией
ГАМК	γ-аминомасляная кислота
$ГАМК_X$-рецептор	Рецептор γ-аминомасляной кислоты подтипа Х
ГЗТ	Гиперчувствительность замедленного типа
Д	Количество дефекаций
ДА	Двигательная активность
ДМФА	Диметилформамид
ЖТ	Желудочковая тахикардия
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
ИК	Инфрокрасная спектроскопия
КД	Коэффициент дискриминации
КИ	Клиническое исследование
ЛП	Латентный период
ЛС	Лекарственное средство
МЭШ	Максимальный электрошок
н.и.	Не исследовалось
ОДА	Общая двигательная активность
ОП	Открытое поле
ПА	Периферическая активность
ПБР	Периферический бензодиазепиновый рецептор
ПД	Потенциал действия
ПКЛ	Приподнятый крестообразный лабиринт
п/о	Пероральное введение
ПТСР	Посттравматическое стрессовое расстройство

ПФК	Префронтальная кора
ПЭП	Противоэпилептические препараты
ПЭТ	Позитронная эмиссионная томография
РАН	Российская Академия наук
РФ	Российская Федерация
САУ	Синатриальный узел
СИОЗС	Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина
ССЗ	Сердечно-сосудистые заболевания
ТП	Трепетание предсердций
ТСХ	Тонкослойная хроматография
ФЖ	Фибрилляция желудочков
ФП	Фибрилляции предсердий
ХСН	Хроническая сердечная недостаточность
Ц	Количество заходов в центр
ЦА	Центральная активность
цАМФ	Циклический аденозинмонофосфат
ЦБР	Центральный бензодиазепиновый рецептор
ЦНС	Центральная нервная система
ЧНВВ	Число наказуемых взятий воды
ЧСС	Частота сердечных сокращений
ЭКГ	Электрокардиограмма
ЭРП	Эффективный рефрактерный период
ЭЭГ	Электроэнцефалограмма
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс

Список литературы

1. Steinmetz J.D., Seeher K.M., Schiess N., Nichols E., Cao B., Dua T., et al. Global, regional, and national burden of disorders affecting the nervous system, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 // The Lancet Neurology. — 2024. — Vol. 23. — No. 4. — P. 344-381.

2. World Health Organization: Mental disorders. — URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders (дата обращения: 19.06.2024).

3. Investing in treatment for depression and anxiety leads to fourfold return. — URL: https://www.who.int/news/item/13-04-2016-investing-in-treatment-for-depression-and-anxiety-leads-to-fourfold-return (дата обращения: 21.06.2024).

4. Epilepsy. — URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy (дата обращения: 09.12.2022).

5. Espinosa-Jovel C., Toledano R., Aledo-Serrano Á., García-Morales I., Gil-Nagel A. Epidemiological profile of epilepsy in low income populations // Seizure. — 2018. — Vol. 56. — P. 67-72.

6. World Health Organization: Cardiovascular diseases (CVDs). — URL: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds) (дата обращения: 12.10.2021).

7. World Health Organization: Mental Health and COVID-19: Early evidence of the pandemic's impact: Scientific brief, 2 March 2022. — URL: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief-Mental_health-2022.1 (дата обращения: 20.06.2024).

8. Hendren N.S., Drazner M.H., Bozkurt B., Cooper L.T. Description and Proposed Management of the Acute COVID-19 Cardiovascular Syndrome // Circulation. — 2020. — Vol. 141. — No. 23. — P. 1903-1914.

9. Mokrov G. V., Deeva O.A., Gudasheva T.A. The Ligands of Translocator Protein: Design and Biological Properties // Current Pharmaceutical Design. — 2020. — Vol. 27. — No. 2. — P. 217-237.

10. Kale A., Kakde R., Pawar S., Jagtap V., Dorugade R. Importance of Pharmacophore in Designing Anticonvulsant Agents // CNS & neurological disorders drug targets. — 2023. — Vol. 22. — No. 4. — P. 500-511.

11. Davidson S.M., Ferdinandy P., Andreadou I., Bøtker H.E., Heusch G., Ibáñez B., Ovize M., Schulz R., Yellon D.M., Hausenloy D.J., Garcia-Dorado D. Multitarget Strategies to Reduce Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury // Journal of the American College of

Cardiology. — 2019. — Vol. 73. — No. 1. — P. 89-99.

12. Hausenloy D.J., Garcia-Dorado D., Bøtker H.E., Davidson S.M., Downey J., Engel F.B., Jennings R., Lecour S., Leor J., Madonna R., Ovize M., Perrino C., Prunier F., Schulz R., Sluijter J.P.G., Van Laake L.W., Vinten-Johansen J., Yellon D.M., Ytrehus K., Heusch G., Ferdinandy P. Novel targets and future strategies for acute cardioprotection: Position Paper of the European Society of Cardiology Working Group on Cellular Biology of the Heart // Cardiovascular Research. — 2017. — Vol. 113. — No. 6. — P. 564-585.

13. Mokrov G. V. Multitargeting in cardioprotection: An example of biaromatic compounds // Archiv der Pharmazie. — 2023. — Vol. 356. — No. 9. — P. e2300196.

14. Blass B.E. Basic Principles of Drug Discovery and Development. — Academic Press, 2015.

15. Mavromoustakos T., Durdagi S., Koukoulitsa C., Simcic M., G. Papadopoulos M., Hodoscek M., Golic Grdadolnik S. Strategies in the rational drug design // Current medicinal chemistry. — 2011. — Vol. 18. — No. 17. — P. 2517-2530.

16. Sala D., Engelberger F., Mchaourab H.S., Meiler J. Modeling conformational states of proteins with AlphaFold // Current opinion in structural biology. — 2023. — Vol. 81. — P. 102645.

17. Pinzi L., Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery // International Journal of Molecular Sciences. — 2019. — Vol. 20. — No. 18. — P. 4331.

18. Mohanty M., Mohanty P.S. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review // Monatshefte fur chemie. — 2023. — Vol. 6. — P. 1-25.

19. Stahl M., Todorov N.P., James T., Mauser H., Boehm H.J., Dean P.M. A validation study on the practical use of automated de novo design // Journal of computer-aided molecular design. — 2002. — Vol. 16. — No. 7. — P. 459-478.

20. Mouchlis V.D., Afantitis A., Serra A., Fratello M., Papadiamantis A.G., Aidinis V., Lynch I., Greco D., Melagraki G. Advances in De Novo Drug Design: From Conventional to Machine Learning Methods // International Journal of Molecular Sciences. — 2021. — Vol. 22. — No. 4. — P. 1-22.

21. Giordano D., Biancaniello C., Argenio M.A., Facchiano A. Drug Design by Pharmacophore and Virtual Screening Approach // Pharmaceuticals 2022, Vol. 15, Page 646. — 2022. — Vol. 15. — No. 5. — P. 646.

22. Sharma S., Bhatia V. Recent trends in QSAR in Modelling of Drug-Protein and Protein-Protein Interactions // Combinatorial chemistry & high throughput screening. — 2021. — Vol. 24. — No. 7. — P. 1031-1041.

23. Aldewachi H., Al-Zidan R.N., Conner M.T., Salman M.M. High-Throughput

Screening Platforms in the Discovery of Novel Drugs for Neurodegenerative Diseases // Bioengineering (Basel, Switzerland). — 2021. — Vol. 8. — No. 2. — P. 1-20.

24. Wang Y., Jeon H. 3D cell cultures toward quantitative high-throughput drug screening // Trends in pharmacological sciences. — 2022. — Vol. 43. — No. 7. — P. 569-581.

25. Zhou J., Jiang X., He S., Jiang H., Feng F., Liu W., Qu W., Sun H. Rational Design of Multitarget-Directed Ligands: Strategies and Emerging Paradigms // Journal of medicinal chemistry. — 2019. — Vol. 62. — No. 20. — P. 8881-8914.

26. Li X., Li X., Liu F., Li S., Shi D. Rational Multitargeted Drug Design Strategy from the Perspective of a Medicinal Chemist // Journal of Medicinal Chemistry. — 2021. — Vol. 64. — No. 15. — P. 10581-10605.

27. J. Geldenhuys W., J. Van der Schyf C. Rationally designed multi-targeted agents against neurodegenerative diseases // Current medicinal chemistry. — 2013. — Vol. 20. — No. 13. — P. 1662-1672.

28. Caruso L., Nadur N.F., da Fonseca M.B., Peixoto Ferreira L. de A., Lacerda R.B., Graebin C.S., Kümmerle A.E. The Design of Multi-target Drugs to Treat Cardiovascular Diseases: Two (or more) Birds on One Stone // Current topics in medicinal chemistry. — 2022. — Vol. 22. — No. 5. — P. 366-394.

29. Hopkins A.L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery // Nature Chemical Biology. — 2008. — Vol. 4. — No. 11. — P. 682-690.

30. Oset-Gasque M.J., Marco-Contelles J. Alzheimer's Disease, the "One-Molecule, One-Target" Paradigm, and the Multitarget Directed Ligand Approach // ACS chemical neuroscience. — 2018. — Vol. 9. — No. 3. — P. 401-403.

31. Papadopoulos V., Baraldi M., Guilarte T.R., Knudsen T.B., Lacapère J.J., Lindemann P., Norenberg M.D., Nutt D., Weizman A., Zhang M.R., Gavish M. Translocator protein (18 kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function // Trends in Pharmacological Sciences. — 2006. — Vol. 27. — No. 8. — P. 402-409.

32. Jaremko Ł., Jaremko M., Giller K., Becker S., Zweckstetter M. Structure of the mitochondrial translocator protein in complex with a diagnostic ligand // Science. — 2014. — Vol. 343. — No. 6177. — P. 1363-1366.

33. Li F., Liu J., Liu N., Kuhn L.A., Garavito R.M., Ferguson-Miller S. Translocator Protein 18 kDa (TSPO): An Old Protein with New Functions? // Biochemistry. — 2016. — Vol. 55. — No. 20. — P. 2821-2831.

34. Jaremko Ł., Jaremko M., Giller K., Becker S., Zweckstetter M. Conformational

Flexibility in the Transmembrane Protein TSPO // Chemistry. — 2015. — Vol. 21. — No. 46. — P. 16555-16563.

35. Guo Y., Kalathur R.C., Liu Q., Kloss B., Bruni R., Ginter C., Kloppmann E., Rost B., Hendrickson W.A. Protein structure. Structure and activity of tryptophan-rich TSPO proteins // Science. — 2015. — Vol. 347. — No. 6221. — P. 551-555.

36. Li F., Liu J., Zheng Y., Garavito R.M., Ferguson-Miller S. Protein structure. Crystal structures of translocator protein (TSPO) and mutant mimic of a human polymorphism // Science. — 2015. — Vol. 347. — No. 6221. — P. 555-558.

37. Korkhov V.M., Sachse C., Short J.M., Tate C.G. Three-dimensional structure of TspO by electron cryomicroscopy of helical crystals // Structure. — 2010. — Vol. 18. — No. 6. — P. 677-687.

38. Li H., Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine receptor function in cholesterol transport. Identification of a putative cholesterol recognition/interaction amino acid sequence and consensus pattern // Endocrinology. — 1998. — Vol. 139. — No. 12. — P. 4991-4997.

39. Owen D.R.J., Gunn R.N., Rabiner E.A., Bennacef I., Fujita M., Kreisl W.C., Innis R.B., Pike V.W., Reynolds R., Matthews P.M., Parker C.A. Mixed-affinity binding in humans with 18-kDa translocator protein ligands // Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine. — 2011. — Vol. 52. — No. 1. — P. 24-32.

40. Owen D.R.J., Lewis A.J.M., Reynolds R., Rupprecht R., Eser D., Wilkins M.R., Bennacef I., Nutt D.J., Parker C.A. Variation in binding affinity of the novel anxiolytic XBD173 for the 18 kDa translocator protein in human brain // Synapse. — 2011. — Vol. 65. — No. 3. — P. 257-259.

41. Owen D.R., Yeo A.J., Gunn R.N., Song K., Wadsworth G., Lewis A., Rhodes C., Pulford D.J., Bennacef I., Parker C.A., Stjean P.L., Cardon L.R., Mooser V.E., Matthews P.M., Rabiner E.A., Rubio J.P. An 18-kDa translocator protein (TSPO) polymorphism explains differences in binding affinity of the PET radioligand PBR28 // Journal of cerebral blood flow and metabolism. — 2012. — Vol. 32. — No. 1. — P. 1-5.

42. Lacapère J.J., Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine receptor: Structure and function of a cholesterol-binding protein in steroid and bile acid biosynthesis // Steroids. — 2003. — Vol. 68. — No. 7-8. — P. 569-585.

43. Casellas P., Galiegue S., Basile A.S. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function // Neurochemistry International. — 2002. — Vol. 40. — No. 6. — P. 475-486.

44. Gavish M., Bachman I., Shoukrun R., Katz Y., Veenman L., Weisinger G., Weizman

A. Enigma of the peripheral benzodiazepine receptor // Pharmacological Reviews. — 1999. — Vol. 51. — No. 4. — P. 629-650.

45. Anholt R.R.H., Murphy K.M.M., Mack G.E., Snyder S.H. Peripheral-type benzodiazepine receptors in the central nervous system: localization to olfactory nerves // The Journal of neuroscience. — 1984. — Vol. 4. — No. 2. — P. 593-603.

46. Bolger G.T., Mezey E., Cott J., Weissman B.A., Paul S.M., Skolnick P. Differential regulation of “central” and “peripheral” benzodiazepine binding sites in the rat olfactory bulb // European journal of pharmacology. — 1984. — Vol. 105. — No. 1-2. — P. 143-148.

47. Jayakumar A.R., Panickar K.S., Norenberg M.D. Effects on free radical generation by ligands of the peripheral benzodiazepine receptor in cultured neural cells // Journal of neurochemistry. — 2002. — Vol. 83. — No. 5. — P. 1226-1234.

48. Karchewski L.A., Bloechlinger S., Woolf C.J. Axonal injury-dependent induction of the peripheral benzodiazepine receptor in small-diameter adult rat primary sensory neurons // The European journal of neuroscience. — 2004. — Vol. 20. — No. 3. — P. 671-683.

49. Papadopoulos V., Amri H., Boujrad N., Cascio C., Culty M., Garnier M., Hardwick M., Li H., Vidic B., Brown A.S., Reversa J.L., Bernassau J.M., Drieu K. Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol transport and steroidogenesis // Steroids. — 1997. — Vol. 62. — No. 1. — P. 21-28.

50. Hirsch J.D., Beyer C.F., Malkowitz L., Beer B., Blume A.J. Mitochondrial benzodiazepine receptors mediate inhibition of mitochondrial respiratory control // Molecular Pharmacology. — 1989. — Vol. 35. — No. 1. — P. 157-163.

51. Corsi L., Geminiani E., Baraldi M. Peripheral benzodiazepine receptor (PBR) new insight in cell proliferation and cell differentiation review // Current clinical pharmacology. — 2008. — Vol. 3. — No. 1. — P. 38-45.

52. L V., V P., M G. Channel-like functions of the 18-kDa translocator protein (TSPO): regulation of apoptosis and steroidogenesis as part of the host-defense response // Current pharmaceutical design. — 2007. — Vol. 13. — No. 23. — P. 2385-2405.

53. Papadopoulos V., Liu J., Culty M. Is there a mitochondrial signaling complex facilitating cholesterol import? // Molecular and cellular endocrinology. — 2007. — Vols. 265-266. — P. 59-64.

54. Jamin N., Neumann J.M., Ostuni M.A., Vu T.K.N., Yao Z.X., Murail S., Robert J.C., Giatzakis C., Papadopoulos V., Lacapère J.J. Characterization of the cholesterol recognition amino acid consensus sequence of the peripheral-type benzodiazepine receptor // Molecular endocrinology (Baltimore, Md.). — 2005. — Vol. 19. — No. 3. — P. 588-594.

55. Murail S., Robert J.C., Coïc Y.M., Neumann J.M., Ostuni M.A., Yao Z.X.,

Papadopoulos V., Jamin N., Lacapère J.J. Secondary and tertiary structures of the transmembrane domains of the translocator protein TSPO determined by NMR. Stabilization of the TSPO tertiary fold upon ligand binding // Biochimica et biophysica acta. — 2008. — Vol. 1778. — No. 6. — P. 1375-1381.

56. Papadopoulos V., Aghazadeh Y., Fan J., Campioli E., Zirkin B., Midzak A. Translocator protein-mediated pharmacology of cholesterol transport and steroidogenesis // Molecular and cellular endocrinology. — 2015. — Vol. 408. — P. 90-98.

57. Rone M.B., Midzak A.S., Issop L., Rammouz G., Jagannathan S., Fan J., Ye X., Blonder J., Veenstra T., Papadopoulos V. Identification of a dynamic mitochondrial protein complex driving cholesterol import, trafficking, and metabolism to steroid hormones // Molecular endocrinology (Baltimore, Md.). — 2012. — Vol. 26. — No. 11. — P. 1868-1882.

58. Rupprecht R., Papadopoulos V., Rammes G., Baghai T.C., Fan J., Akula N., Groyer G., Adams D., Schumacher M. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. Vol. 9. — Nat Rev Drug Discov, 2010.

59. Bordet T., Buisson B., Michaud M., Drouot C., Galéa P., Delaage P., Akentieva N.P., Evers A.S., Covey D.F., Ostuni M.A., Lacapère J.J., Massaad C., Schumacher M., Steidl E.M., Maux D., Delaage M., Henderson C.E., Pruss R.M. Identification and characterization of cholest-4-en-3-one, oxime (TRO19622), a novel drug candidate for amyotrophic lateral sclerosis // The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. — 2007. — Vol. 322. — No. 2. — P. 709-720.

60. Snyder S.H., Verma A., Trifiletti R.R. The peripheral-type benzodiazepine receptor: a protein of mitochondrial outer membranes utilizing porphyrins as endogenous ligands // FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. — 1987. — Vol. 1. — No. 4. — P. 282-288.

61. Verma A., Nye J.S., Snyder S.H. Porphyrins are endogenous ligands for the mitochondrial (peripheral-type) benzodiazepine receptor // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1987. — Vol. 84. — No. 8. — P. 2256-2260.

62. Verma A., Snyder S.H. Peripheral type benzodiazepine receptors // Annual review of pharmacology and toxicology. — 1989. — Vol. 29. — P. 307-322.

63. Liu J., Hiser C., Li F., Hall R., Garavito R.M., Ferguson-Miller S. New TSPO Crystal Structures of Mutant and Heme-Bound Forms with Altered Flexibility, Ligand Binding, and Porphyrin Degradation Activity // Biochemistry. — 2023. — Vol. 62. — No. 7. — P. 1262-1273.

64. Guidotti A., Forchetti C.M., Corda M.G., Konkel D., Bennett C.D., Costa E. Isolation, characterization, and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic action on benzodiazepine receptors // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1983. — Vol. 80. — No. 11. — P. 3531-3535.

65. Bovolin P., Schlichting J., Miyata M., Ferrarese C., Guidotti A., Alho H. Distribution and characterization of diazepam binding inhibitor (DBI) in peripheral tissues of rat // Regulatory peptides. — 1990. — Vol. 29. — No. 2-3. — P. 267-281.

66. Ferrero P., Santi M.R., Conti-Tronconi B., Costa E., Guidotti A. Study of an octadecaneuropeptide derived from diazepam binding inhibitor (DBI): biological activity and presence in rat brain // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1986. — Vol. 83. — No. 3. — P. 827-831.

67. Slobodyansky E., Guidotti A., Wambebe C., Berkovich A., Costa E. Isolation and characterization of a rat brain triakontatetraneuropeptide, a posttranslational product of diazepam binding inhibitor: specific action at the Ro 5-4864 recognition site // Journal of neurochemistry. — 1989. — Vol. 53. — No. 4. — P. 1276-1284.

68. Papadopoulos V., Berkovich A., Krueger K.E., Costa E., Guidotti A. Diazepam binding inhibitor and its processing products stimulate mitochondrial steroid biosynthesis via an interaction with mitochondrial benzodiazepine receptors // Endocrinology. — 1991. — Vol. 129. — No. 3. — P. 1481-1488.

69. Li H., Degenhardt B., Tobin D., Yao Z., Tasken K., Papadopoulos V. Identification, localization, and function in steroidogenesis of PAP7: a peripheral-type benzodiazepine receptor- and PKA (RIalpha)-associated protein // Molecular endocrinology (Baltimore, Md.). — 2001. — Vol. 15. — No. 12. — P. 2211-2228.

70. Fan J., Liu J., Culty M., Papadopoulos V. Acyl-coenzyme A binding domain containing 3 (ACBD3; PAP7; GCP60): an emerging signaling molecule // Progress in lipid research. — 2010. — Vol. 49. — No. 3. — P. 218-234.

71. Liu J., Rone M.B., Papadopoulos V. Protein-protein interactions mediate mitochondrial cholesterol transport and steroid biosynthesis // The Journal of biological chemistry. — 2006. — Vol. 281. — No. 50. — P. 38879-38893.

72. Braestrup C., Squires R.F. Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity [3H]diazepam binding // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1977. — Vol. 74. — No. 9. — P. 3805-3809.

73. Gavioli E.C., Silveira Duarte F., Bressan E., Ferrara P., Coimbra Farges R., De Lima T.C.M. Antidepressant-like effect of Ro5-4864, a peripheral-type benzodiazepine receptor ligand, in forced swimming test // European Journal of Pharmacology. — 2003. — Vol. 471.

— No. 1. — P. 21-26.

74. Barron A.M., Garcia-Segura L.M., Caruso D., Jayaraman A., Lee J.W., Melcangi R.C., Pike C.J. Ligand for translocator protein reverses pathology in a mouse model of Alzheimer's disease // The Journal of neuroscience. — 2013. — Vol. 33. — No. 20. — P. 8891-8897.

75. Mills C., Makwana M., Wallace A., Benn S., Schmidt H., Tegeder I., Costigan M., Brown R.H., Raivich G., Woolf C.J. Ro5-4864 promotes neonatal motor neuron survival and nerve regeneration in adult rats // The European journal of neuroscience. — 2008. — Vol. 27. — No. 4. — P. 937-946.

76. Leonelli E., Yague J.G., Ballabio M., Azcoitia I., Magnaghi V., Schumacher M., Garcia-Segura L.M., Melcangi R.C. Ro5-4864, a synthetic ligand of peripheral benzodiazepine receptor, reduces aging-associated myelin degeneration in the sciatic nerve of male rats // Mechanisms of ageing and development. — 2005. — Vol. 126. — No. 11. — P. 1159-1163.

77. Palzur E., Zaaroor M., Vlodavsky E., Milman F., Soustiel J.F. Neuroprotective effect of hyperbaric oxygen therapy in brain injury is mediated by preservation of mitochondrial membrane properties // Brain research. — 2008. — Vol. 1221. — P. 126-133.

78. Veiga S., Azcoitia I., Garcia-Segura L.M. Ro5-4864, a peripheral benzodiazepine receptor ligand, reduces reactive gliosis and protects hippocampal hilar neurons from kainic acid excitotoxicity // Journal of neuroscience research. — 2005. — Vol. 80. — No. 1. — P. 129-137.

79. Giatti S., Pesaresi M., Cavaletti G., Bianchi R., Carozzi V., Lombardi R., Maschi O., Lauria G., Garcia-Segura L.M., Caruso D., Melcangi R.C. Neuroprotective effects of a ligand of translocator protein-18 kDa (Ro5-4864) in experimental diabetic neuropathy // Neuroscience. — 2009. — Vol. 164. — No. 2. — P. 520-529.

80. Le Fur G., Perrier M.L., Vaucher N., Imbault F., Flamier A., Benavides J., Uzan A., Renault C., Dubroeucq M.C., Guérémy C. Peripheral benzodiazepine binding sites: effect of PK 11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide. I. In vitro studies // Life sciences. — 1983. — Vol. 32. — No. 16. — P. 289-292.

81. Selleri S., Bruni F., Costagli C., Costanzo A., Guerrini G., Ciciani G., Costa B., Martini C. 2-Arylpyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl acetamides. New potent and selective peripheral benzodiazepine receptor ligands // Bioorganic and Medicinal Chemistry. — 2001. — Vol. 9. — No. 10. — P. 2661-2671.

82. Zhang L.M., Zhao N., Guo W.Z., Jin Z.L., Qiu Z.K., Chen H.X., Xue R., Zhang Y.Z., Yang R.F., Li Y.F. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of YL-IPA08, a potent ligand

for the translocator protein (18 kDa) // Neuropharmacology. — 2014. — Vol. 81. — P. 116-125.

83. Zhang L.M., Qiu Z.K., Zhao N., Chen H.X., Liu Y.Q., Xu J.P., Zhang Y.Z., Yang R.F., Li Y.F. Anxiolytic-like effects of YL-IPA08, a potent ligand for the translocator protein (18 kDa) in animal models of post-traumatic stress disorder // The international journal of neuropsychopharmacology. — 2014. — Vol. 17. — No. 10. — P. 1659-1669.

84. Kozikowski A.P., Ma D., Brewer J., Sun S., Costa E., Romeo E., Guidotti A. Chemistry, binding affinities, and behavioral properties of a new class of “antineophobic” mitochondrial DBI receptor complex (mDRC) ligands // Journal of medicinal chemistry. — 1993. — Vol. 36. — No. 20. — P. 2908-2920.

85. Kita A., Kohayakawa H., Kinoshita T., Ochi Y., Nakamichi K., Kurumiya S., Furukawa K., Oka M. Antianxiety and antidepressant-like effects of AC-5216, a novel mitochondrial benzodiazepine receptor ligand // British journal of pharmacology. — 2004. — Vol. 142. — No. 7. — P. 1059-1072.

86. Zivkovic B., Morel E., Joly D., Perrault G., Sanger D.J., Llyod K.G. Pharmacological and behavioral profile of alpidem as an anxiolytic // Pharmacopsychiatry. — 1990. — Vol. 23 Suppl 3. — No. 3. — P. 108-113.

87. US Patent 4382938 A: опубл. 1983 / J.P. Kaplan, G.R. Jackson.

88. Langer S.Z., Arbilla S., Benavides J., Scatton B. Zolpidem and alpidem: two imidazopyridines with selectivity for omega 1- and omega 3-receptor subtypes. Vol. 46. — 1990.

89. Bourguignon J.J. Endogenous and synthetic ligands of mitochondrial benzodiazepine receptors: structure-affinity relationships // Peripheral benzodiazepine receptors. Giesen-Crouse, E.; Ed.; Academic Press: London. — 1993. — P. 59–85.

90. Barki J., Larrey D., Pageaux G., Lamblin G., Gineston J.L., Michel H. Fatal subfulminant hepatitis during treatment with alpidem (Ananxyl) // Gastroenterol Clin Biol . — 1993. — Vol. 17. — No. 11. — P. 872-874.

91. Baty V., Denis B., Goudot C., Bas V., Renkes P., Bigard M.A., Boissel P., Gaucher P. Hepatitis induced by alpidem (Ananxyl). Four cases, one of them fatal // Gastroenterol Clin Biol . — 1994. — Vol. 18. — No. 12. — P. 1129-1131.

92. Ausset P., Malavialle P., Vallet A., Miremont G., Bail B. Le, Dumas F., Saric J., Winnock S. Subfulminant hepatitis caused by alpidem and treated by liver transplantation // Gastroenterol Clin Biol . — 1995. — Vol. 19. — No. 2. — P. 222-223.

93. Fiorini I., Nacci V., Ciani S.M., Garofalo A., Campiani G., Savini L., Novellino E., Greco G., Bernasconi P., Mennini T. Novel ligands specific for mitochondrial benzodiazepine receptors: 6-arylpyrrolo[2,1-d][1,5]benzothiazepine derivatives. Synthesis, structure-activity

relationships, and molecular modeling studies // Journal of medicinal chemistry. — 1994. — Vol. 37. — No. 10. — P. 1427-1438.

94. Greco G., Novellino E., Fiorini I., Nacci V., Campiani G., Ciani S.M., Garofalo A., Bernasconi P., Mennini T. A comparative molecular field analysis model for 6-arylpyrrolo[2,1-d] [1,5]benzothiazepines binding selectively to the mitochondrial benzodiazepine receptor // Journal of medicinal chemistry. — 1994. — Vol. 37. — No. 24. — P. 4100-4108.

95. Campiani G., Nacci V., Fiorini I., De Filippis M., Garofalo A., Ciani S.M., Greco G., Novellino E., Manzoni C., Mennini T. New pyrrolobenzothiazepine derivatives as molecular probes of the 'peripheral-type' benzodiazepine receptor (PBR) binding site // European Journal of Medicinal Chemistry. — 1997. — Vol. 32. — No. 3. — P. 241-251.

96. Campiani G., Ramunno A., Fiorini I., Nacci V., Morelli E., Novellino E., Goegan M., Mennini T., Sullivan S., Zisterer D.M., Williams C.D. Synthesis of new molecular probes for investigation of steroid biosynthesis induced by selective interaction with peripheral type benzodiazepine receptors (PBR) // Journal of medicinal chemistry. — 2002. — Vol. 45. — No. 19. — P. 4276-4281.

97. Okuyama S., Chaki S., Yoshikawa R., Ogawa S.I., Suzuki Y., Okubo T., Nakazato A., Nagamine M., Tomisawa K. Neuropharmacological profile of peripheral benzodiazepine receptor agonists, DAA1097 and DAA1106 // Life Sciences. — 1999. — Vol. 64. — No. 16. — P. 1455-1464.

98. Okubo T., Yoshikawa R., Chaki S., Okuyama S., Nakazato A. Design, synthesis and structure-affinity relationships of aryloxyanilide derivatives as novel peripheral benzodiazepine receptor ligands // Bioorganic and Medicinal Chemistry. — 2004. — Vol. 12. — No. 2. — P. 423-438.

99. Chaki S., Funakoshi T., Yoshikawa R., Okuyama S., Okubo T., Nakazato A., Nagamine M., Tomisawa K. Binding characteristics of [3H]DAA1106, a novel and selective ligand for peripheral benzodiazepine receptors // European journal of pharmacology. — 1999. — Vol. 371. — No. 2-3. — P. 197-204.

100. Briard E., Zoghbi S.S., Siméon F.G., Imaizumi M., Gourley J.P., Shetty H.U., Lu S., Fujita M., Innis R.B., Pike V.W. Single-step high-yield radiosynthesis and evaluation of a sensitive 18F-labeled ligand for imaging brain peripheral benzodiazepine receptors with PET // Journal of medicinal chemistry. — 2009. — Vol. 52. — No. 3. — P. 688-699.

101. Elkamhawy A., Park J. eun, Hassan A.H.E., Pae A.N., Lee J., Park B.G., Paik S., Do J., Park J.H., Park K.D., Moon B., Park W.K., Cho H., Jeong D.Y., Roh E.J. Design, synthesis, biological evaluation and molecular modelling of 2-(2-aryloxyphenyl)-1,4-dihydroisoquinolin-3(2H)-ones: A novel class of TSPO ligands modulating amyloid-β-induced mPTP opening //

European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences. — 2017. — Vol. 104. — P. 366-381.

102. Kita A., Furukawa K. Involvement of neurosteroids in the anxiolytic-like effects of AC-5216 in mice // Pharmacology, biochemistry, and behavior. — 2008. — Vol. 89. — No. 2. — P. 171-178.

103. Kita A., Kinoshita T., Kohayakawa H., Furukawa K., Akaike A. Lack of tolerance to anxiolysis and withdrawal symptoms in mice repeatedly treated with AC-5216, a selective TSPO ligand // Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. — 2009. — Vol. 33. — No. 6. — P. 1040-1045.

104. Rupprecht R., Ranimes G., Eser D., Baghai T.C., Schule C., Nothdurfter C., Troxler T., Gentsch C., Kalkman H.O., Chaperon F., Uzunov V., McAllister K.H., Bertaina-Anglade V., La Rochelle C.D., Tuerck D., Floesser A., Kiese B., Schumacher M., Landgraf R., Holsboer F., Kucher K. Translocator protein (18 kD) as target for anxiolytics without benzodiazepine-like side effects // Science. — 2009. — Vol. 325. — No. 5939. — P. 490-493.

105. Qiu Z.K., Zhang L.M., Zhao N., Chen H.X., Zhang Y.Z., Liu Y.Q., Mi T.Y., Zhou W.W., Li Y., Yang R.F., Xu J.P., Li Y.F. Repeated administration of AC-5216, a ligand for the 18 kDa translocator protein, improves behavioral deficits in a mouse model of post-traumatic stress disorder // Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. — 2013. — Vol. 45. — P. 40-46.

106. Wolf L., Bauer A., Melchner D., Hallof-Buestrich H., Stoertebecker P., Haen E., Kreutz M., Sarubin N., Milenkovic V.M., Wetzel C.H., Rupprecht R., Nothdurfter C. Enhancing neurosteroid synthesis--relationship to the pharmacology of translocator protein (18 kDa) (TSPO) ligands and benzodiazepines // Pharmacopsychiatry. — 2015. — Vol. 48. — No. 2. — P. 72-77.

107. Wang D. sheng, Tian Z., Guo Y. yan, Guo H. liang, Kang W. bo, Li S., Den Y. ting, Li X. bo, Feng B., Feng D., Zhao J. ning, Liu G., Zhao M. gao Anxiolytic-like effects of translocator protein (TSPO) ligand ZBD-2 in an animal model of chronic pain // Molecular pain. — 2015. — Vol. 11. — No. 1.

108. Li X.B., Guo H.L., Shi T.Y., Yang L., Wang M., Zhang K., Guo Y.Y., Wu Y.M., Liu S.B., Zhao M.G. Neuroprotective effects of a novel translocator protein (18 kDa) ligand, ZBD-2, against focal cerebral ischemia and NMDA-induced neurotoxicity // Clinical and experimental pharmacology & physiology. — 2015. — Vol. 42. — No. 10. — P. 1068-1074.

109. Fukaya T., Kodo T., Ishiyama T., Kakuyama H., Nishikawa H., Baba S., Masumoto S. Design, synthesis and structure-activity relationships of novel benzoxazolone derivatives as 18

kDa translocator protein (TSPO) ligands // Bioorganic & medicinal chemistry. — 2012. — Vol. 20. — No. 18. — P. 5568-5582.

110. Fukaya T., Kodo T., Ishiyama T., Nishikawa H., Baba S., Masumoto S. Design, synthesis and structure-activity relationship of novel tricyclic benzimidazolone derivatives as potent 18 kDa translocator protein (TSPO) ligands // Bioorganic & medicinal chemistry. — 2013. — Vol. 21. — No. 5. — P. 1257-1267.

111. Hallé F., Lejri I., Abarghaz M., Grimm A., Klein C., Maitre M., Schmitt M., Bourguignon J.J., Mensah-Nyagan A.G., Eckert A., Bihel F. Discovery of Imidazoquinazolinone Derivatives as TSPO Ligands Modulating Neurosteroidogenesis and Cellular Bioenergetics in Neuroblastoma Cells Expressing Amyloid Precursor Protein // ChemistrySelect. — 2017. — Vol. 2. — No. 22. — P. 6452-6457.

112. Anzini M., Cappelli A., Vomero S., Seeber M., Menziani M.C., Langer T., Hagen B., Manzoni C., Bourguignon J.J. Mapping and fitting the peripheral benzodiazepine receptor binding site by carboxamide derivatives. Comparison of different approaches to quantitative ligand-receptor interaction modeling // Journal of medicinal chemistry. — 2001. — Vol. 44. — No. 8. — P. 1134-1150.

113. Cappelli A., Mohr G.P., Gallelli A., Giuliani G., Anzini M., Vomero S., Fresta M., Porcu P., Maciocco E., Concas A., Biggio G., Donati A. Structure-activity relationships in carboxamide derivatives based on the targeted delivery of radionuclides and boron atoms by means of peripheral benzodiazepine receptor ligands // Journal of medicinal chemistry. — 2003. — Vol. 46. — No. 17. — P. 3568-3571.

114. Castellano S., Taliani S., Viviano M., Milite C., Da Pozzo E., Costa B., Barresi E., Bruno A., Cosconati S., Marinelli L., Greco G., Novellino E., Sbardella G., Da Settimo F., Martini C. Structure-activity relationship refinement and further assessment of 4-phenylquinazoline-2-carboxamide translocator protein ligands as antiproliferative agents in human glioblastoma tumors // Journal of medicinal chemistry. — 2014. — Vol. 57. — No. 6. — P. 2413-2428.

115. Milite C., Barresi E., Da Pozzo E., Costa B., Viviano M., Porta A., Messere A., Sbardella G., Da Settimo F., Novellino E., Cosconati S., Castellano S., Taliani S., Martini C. Exploiting the 4-Phenylquinazoline Scaffold for the Development of High Affinity Fluorescent Probes for the Translocator Protein (TSPO) // Journal of medicinal chemistry. — 2017. — Vol. 60. — No. 18. — P. 7897-7909.

116. Trapani G., Franco M., Ricciardi L., Latrofa A., Genchi G., Sanna E., Tuveri F., Cagetti E., Biggio G., Liso G. Synthesis and binding affinity of 2-phenylimidazo[1,2-α]pyridine derivatives for both central and peripheral benzodiazepine receptors. A new series of high-

affinity and selective ligands for the peripheral type // Journal of Medicinal Chemistry. — 1997. — Vol. 40. — No. 19. — P. 3109–3118.

117. Lentini G., Bourguignon J.J., Wermuth C.G. Ligands of the peripheraltype benzodiazepine bindimg site (PBS): structureactivity relationships and computer-aided conformational analysis // QASAR: Rational Approaches to the Design of Bioactive Compounds; Elsevier Science Publishers B.V.: Amsterdam. — 1991. — P. 257–260.

118. Tebib S., Bourguignon J.J., Wermuth C.G. The active analog approach applied to the pharmacophore identification of benzodiazepine receptor ligands // Journal of computer-aided molecular design. — 1987. — Vol. 1. — No. 2. — P. 153-170.

119. Serra M., Madau P., Chessa M.F., Caddeo M., Sanna E., Trapani G., Franco M., Liso G., Purdy R.H., Barbaccia M.L., Biggio G. 2-Phenyl-imidazo[1,2-alpyridine derivatives as ligands for peripheral benzodiazepine receptors: Stimulation of neurosteroid synthesis and anticonflict action in rats // British Journal of Pharmacology. — 1999. — Vol. 127. — No. 1. — P. 177-187.

120. James M.L., Fulton R.R., Vercoullie J., Henderson D.J., Garreau L., Chalon S., Dolle F., Selleri S., Guilloteau D., Kassiou M. DPA-714, a new translocator protein-specific ligand: synthesis, radiofluorination, and pharmacologic characterization // Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine. — 2008. — Vol. 49. — No. 5. — P. 814-822.

121. Leaver K.R., Reynolds A., Bodard S., Guilloteau D., Chalon S., Kassiou M. Effects of translocator protein (18 kDa) ligands on microglial activation and neuronal death in the quinolinic-acid-injected rat striatum // ACS chemical neuroscience. — 2012. — Vol. 3. — No. 2. — P. 114-119.

122. Romeo E., Auta J., Kozikowski A.P., Ma D., Papadopoulos V., Puia G., Costa E., Guidotti A. 2-Aryl-3-indoleacetamides (FGIN-1): A new class of potent and specific ligands for the mitochondrial DBI receptor (MDR) // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 1992. — Vol. 262. — No. 3. — P. 971-978.

123. Auta J., Romeo E., Kozikowski A., Ma D., Costa E., Guidotti A. Participation of mitochondrial diazepam binding inhibitor receptors in the anticonflict, antineophobic and anticonvulsant action of 2-aryl-3- indoleacetamide and imidazopyridine derivatives // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 1993. — Vol. 265. — No. 2. — P. 649-656.

124. Bitran D., Foley M., Audette D., Leslie N., Frye C.A. Activation of peripheral mitochondrial benzodiazepine receptors in the hippocampus stimulates allopregnanolone synthesis and produces anxiolytic-like effects in the rat // Psychopharmacology. — 2000. —

Vol. 151. — No. 1. — P. 64-71.

125. Da Settimo F., Simorini F., Taliani S., La Motta C., Marini A.M., Salerno S., Bellandi M., Novellino E., Greco G., Cosimelli B., Da Pozzo E., Costa B., Simola N., Morelli M., Martini C. Anxiolytic-like effects of N,N-dialkyl-2-phenylindol-3-ylglyoxylamides by modulation of translocator protein promoting neurosteroid biosynthesis // Journal of medicinal chemistry. — 2008. — Vol. 51. — No. 18. — P. 5798-5806.

126. Costa B., Da Pozzo E., Chelli B., Simola N., Morelli M., Luisi M., Maccheroni M., Taliani S., Simorini F., Da Settimo F., Martini C. Anxiolytic properties of a 2-phenylindolglyoxylamide TSPO ligand: Stimulation of in vitro neurosteroid production affecting GABAA receptor activity // Psychoneuroendocrinology. — 2011. — Vol. 36. — No. 4. — P. 463-472.

127. Barresi E., Bruno A., Taliani S., Cosconati S., Da Pozzo E., Salerno S., Simorini F., Daniele S., Giacomelli C., Marini A.M., La Motta C., Marinelli L., Cosimelli B., Novellino E., Greco G., Da Settimo F., Martini C. Deepening the Topology of the Translocator Protein Binding Site by Novel N,N-Dialkyl-2-arylindol-3-ylglyoxylamides // Journal of medicinal chemistry. — 2015. — Vol. 58. — No. 15. — P. 6081-6092.

128. Da Pozzo E., Giacomelli C., Costa B., Cavallini C., Taliani S., Barresi E., Da Settimo F., Martini C. TSPO PIGA Ligands Promote Neurosteroidogenesis and Human Astrocyte Well-Being // International journal of molecular sciences. — 2016. — Vol. 17. — No. 7.

129. Bruno A., Barresi E., Simola N., Da Pozzo E., Costa B., Novellino E., Da Settimo F., Martini C., Taliani S., Cosconati S. Unbinding of Translocator Protein 18 kDa (TSPO) Ligands: From in Vitro Residence Time to in Vivo Efficacy via in Silico Simulations // ACS chemical neuroscience. — 2019. — Vol. 10. — No. 8. — P. 3805-3814.

130. Costa B., Taliani S., Da Pozzo E., Barresi E., Robello M., Cavallini C., Cosconati S., Da Settimo F., Novellino E., Martini C. Residence Time, a New parameter to Predict Neurosteroidogenic Efficacy of Translocator Protein (TSPO) Ligands: the Case Study of N,N-Dialkyl-2-arylindol-3-ylglyoxylamides // ChemMedChem. — 2017. — Vol. 12. — No. 16. — P. 1275-1278.

131. Costa B., Da Pozzo E., Giacomelli C., Barresi E., Taliani S., Da Settimo F., Martini C. TSPO ligand residence time: a new parameter to predict compound neurosteroidogenic efficacy // Scientific Reports. — 2016. — Vol. 6. — No. 1. — P. 1-12.

132. Liao Y., Kozikowski A.P., Guidotti A., Costa E. Synthesis and pharmacological evaluation of benzofuran-acetamides as “antineophobic” mitochondrial DBI receptor complex ligands // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. — 1998. — Vol. 8. — No. 16. —

P. 2099-2102.

133. Anzini M., Cappelli A., Vomero S., Giorgi G., Langer T., Bruni G., Romeo M.R., Basile A.S. Molecular basis of peripheral vs central benzodiazepine receptor selectivity in a new class of peripheral benzodiazepine receptor ligands related to alpidem // Journal of medicinal chemistry. — 1996. — Vol. 39. — No. 21. — P. 4275-4284.

134. Cappelli A., Giuliani G., Valenti S., Anzini M., Vomero S., Giorgi G., Sogliano C., Maciocco E., Biggio G., Concas A. Synthesis and structure-activity relationship studies in peripheral benzodiazepine receptor ligands related to alpidem // Bioorganic & medicinal chemistry. — 2008. — Vol. 16. — No. 6. — P. 3428-3437.

135. Ferzaz B., Brault E., Bourliaud G., Robert J.P., Poughon G., Claustre Y., Marguet F., Liere P., Schumacher M., Nowicki J.P., Fournier J., Marabout B., Sevrin M., George P., Soubrie P., Benavides J., Scatton B. SSR180575 (7-chloro-N,N,5-trimethyl-4-oxo-3-phenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indole-1-acetamide), a peripheral benzodiazepine receptor ligand, promotes neuronal survival and repair // The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. — 2002. — Vol. 301. — No. 3. — P. 1067-1078.

136. Cappelli A., Bini G., Valenti S., Giuliani G., Paolino M., Anzini M., Vomero S., Giorgi G., Giordani A., Stasi L.P., Makovec F., Ghelardini C., Di Cesare Mannelli L., Concas A., Porcu P., Biggio G. Synthesis and structure-activity relationship studies in translocator protein ligands based on a pyrazolo[3,4-b]quinoline scaffold // Journal of medicinal chemistry. — 2011. — Vol. 54. — No. 20. — P. 7165-7175.

137. Kim T.H., Yang H.Y., Park B.G., Jung S.Y., Park J.H., Park K.D., Min S.J., Tae J., Yang H., Cho S., Cho S.J., Song H., Mook-Jung I., Lee J., Pae A.N. Discovery of benzimidazole derivatives as modulators of mitochondrial function: A potential treatment for Alzheimer's disease // European journal of medicinal chemistry. — 2017. — Vol. 125. — P. 1172-1192.

138. Cheng H.W.A., Sokias R., Werry E.L., Ittner L.M., Reekie T.A., Du J., Gao Q., Hibbs D.E., Kassiou M. First Nondiscriminating Translocator Protein Ligands Produced from a Carbazole Scaffold // Journal of medicinal chemistry. — 2019. — Vol. 62. — No. 17. — P. 8235-8248.

139. Sokias R., Werry E.L., Alison Cheng H.W., Lloyd J.H., Sohler G., Danon J.J., Montgomery A.P., Du J.J., Gao Q., Hibbs D.E., Ittner L.M., Reekie T.A., Kassiou M. Tricyclic heterocycles display diverse sensitivity to the A147T TSPO polymorphism // European journal of medicinal chemistry. — 2020. — Vol. 207.

140. Schlichter R., Rybalchenko V., Poisbeau P., Verleye M., Gillardin J.M. Modulation of GABAergic synaptic transmission by the non-benzodiazepine anxiolytic etifoxine // Neuropharmacology. — 2000. — Vol. 39. — No. 9. — P. 1523-1535.

141. Verleye M., Akwa Y., Liere P., Ladurelle N., Pianos A., Eychenne B., Schumacher M., Gillardin J.M. The anxiolytic etifoxine activates the peripheral benzodiazepine receptor and increases the neurosteroid levels in rat brain // Pharmacology, biochemistry, and behavior. — 2005. — Vol. 82. — No. 4. — P. 712-720.

142. Ugale R.R., Sharma A.N., Kokare D.M., Hirani K., Subhedar N.K., Chopde C.T. Neurosteroid allopregnanolone mediates anxiolytic effect of etifoxine in rats // Brain research. — 2007. — Vol. 1184. — No. 1. — P. 193-201.

143. Aouad M., Charlet A., Rodeau J.L., Poisbeau P. Reduction and prevention of vincristine-induced neuropathic pain symptoms by the non-benzodiazepine anxiolytic etifoxine are mediated by 3alpha-reduced neurosteroids // Pain. — 2009. — Vol. 147. — No. 1-3. — P. 54-59.

144. Nguyen N., Fakra E., Pradel V., Jouve E., Alquier C., Le Guern M.E., Micallef J., Blin O. Efficacy of etifoxine compared to lorazepam monotherapy in the treatment of patients with adjustment disorders with anxiety: a double-blind controlled study in general practice // Human psychopharmacology. — 2006. — Vol. 21. — No. 3. — P. 139-149.

145. Tang F., Hartz A.M.S., Bauer B. Drug-Resistant Epilepsy: Multiple Hypotheses, Few Answers // Frontiers in neurology. — 2017. — Vol. 8. — P. 301.

146. Salpekar J.A., Mula M. Common psychiatric comorbidities in epilepsy: How big of a problem is it? // Epilepsy & behavior : E&B. — 2019. — Vol. 98. — No. Pt B. — P. 293-297.

147. Löscher W., Stafstrom C.E. Epilepsy and its neurobehavioral comorbidities: Insights gained from animal models // Epilepsia. — 2023. — Vol. 64. — No. 1. — P. 54-91.

148. Löscher W., Klitgaard H., Twyman R.E., Schmidt D. New avenues for anti-epileptic drug discovery and development // Nature Reviews Drug Discovery 2013 12:10. — 2013. — Vol. 12. — No. 10. — P. 757-776.

149. Rodrigues T.C.M.L., de Moura J.P., dos Santos A.M.F., Monteiro A.F.M., Lopes S.M., Scotti M.T., Scotti L. Epileptic Targets and Drugs: A Mini-Review // Current drug targets. — 2023. — Vol. 24. — No. 3. — P. 212-224.

150. Raut D., Bhatt L.K. Evolving targets for anti-epileptic drug discovery // European journal of pharmacology. — 2020. — Vol. 887.

151. Löscher W., Klein P. The Pharmacology and Clinical Efficacy of Antiseizure Medications: From Bromide Salts to Cenobamate and Beyond // CNS drugs. — 2021. — Vol. 35. — No. 9. — P. 935-963.

152. Gerlach A.C., Krajewski J.L. Antiepileptic Drug Discovery and Development: What Have We Learned and Where Are We Going? // Pharmaceuticals. — 2010. — Vol. 3. —

No. 9. — P. 2884.

153. Löscher W. Single-Target Versus Multi-Target Drugs Versus Combinations of Drugs With Multiple Targets: Preclinical and Clinical Evidence for the Treatment or Prevention of Epilepsy // Frontiers in Pharmacology. — 2021. — Vol. 12. — P. 730257.

154. Bialer M., White H.S. Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs // Nature Reviews Drug Discovery. — 2010. — Vol. 9. — No. 1. — P. 68-82.

155. Malawska B., Scatturin A. Application of pharmacophore models for the design and synthesis of new anticonvulsant drugs // Mini reviews in medicinal chemistry. — 2003. — Vol. 3. — No. 4. — P. 341-348.

156. Dimmock J.R., Puthucode R.N., Smith J.M., Hetherington M., Quail J.W., Pugazhenthi U., Lechler T., Stables J.P. (Aryloxy)aryl semicarbazones and related compounds: a novel class of anticonvulsant agents possessing high activity in the maximal electroshock screen // Journal of medicinal chemistry. — 1996. — Vol. 39. — No. 20. — P. 3984-3997.

157. Dimmock J.R., Puthucode R.N., Tuchek J., Baker G.B., Hinko C.N., Steinmiller C.L., Stables J.P. Anticonvulsant activities of 4,(4'-fluorophenoxy) benzaldehyde semicarbazone // Drug Development Research. — 1999. — Vol. 46. — No. 2. — P. 112-125.

158. Pandeya S.N. Semicarbazone--a versatile therapeutic pharmacophore for fragment based anticonvulsant drug design // Acta pharmaceutica (Zagreb, Croatia). — 2012. — Vol. 62. — No. 3. — P. 263-286.

159. Pandeya S.N., Raja A.S., Stables J.P. Synthesis of isatin semicarbazones as novel anticonvulsants - Role of hydrogen bonding // Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. — 2002. — Vol. 5. — No. 3. — P. 266-271.

160. Azam F., El-Gnidi B.A., Alkskas I.A. Combating oxidative stress in epilepsy: design, synthesis, quantum chemical studies and anticonvulsant evaluation of 1-(substituted benzylidene/ethylidene)-4-(naphthalen-1-yl)semicarbazides // European journal of medicinal chemistry. — 2010. — Vol. 45. — No. 7. — P. 2817-2826.

161. Malik S., Bahare R.S., Khan S.A. Design, synthesis and anticonvulsant evaluation of N-(benzo[d]thiazol-2-ylcarbamoyl)-2-methyl-4-oxoquinazoline-3(4H)-carbothioamide derivatives: a hybrid pharmacophore approach // European journal of medicinal chemistry. — 2013. — Vol. 67. — P. 1-13.

162. Siddiqui N., Alam M.S., Sahu M., Naim M.J., Yar M.S., Alam O. Design, synthesis, anticonvulsant evaluation and docking study of 2-[(6-substituted benzo[d]thiazol-2-ylcarbamoyl)methyl]-1-(4-substituted phenyl)isothioureas // Bioorganic chemistry. — 2017. — Vol. 71. — P. 230-243.

163. Abuelhassan A.H., Badran M.M., Hassan H.A., Abdelhamed D., Elnabtity S., Aly O.M. Design, synthesis, anticonvulsant activity, and pharmacophore study of new 1,5-diaryl-1H-1,2,4-triazole-3-carboxamide derivatives // Medicinal Chemistry Research. — 2018. — Vol. 27. — No. 3. — P. 928-938.

164. Kothayer H., Ibrahim S.M., Soltan M.K., Rezq S., Mahmoud S.S. Synthesis, in vivo and in silico evaluation of novel 2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one derivatives as potential anticonvulsant agents // Drug development research. — 2019. — Vol. 80. — No. 3. — P. 343-352.

165. Nath R., Shahar Yar M., Pathania S., Grover G., Debnath B., Akhtar M.J., Nath R., Shahar Yar M., Pathania S., Grover G., Debnath B., Akhtar M.J. Synthesis and anticonvulsant evaluation of indoline derivatives of functionalized aryloxadiazole amine and benzothiazole acetamide // JMoSt. — 2021. — Vol. 1228. — P. 129742.

166. Shafie A., Mohammadi-Khanaposhtani M., Asadi M., Rahimi N., Ranjbar P.R., Ghasemi J.B., Larijani B., Mahdavi M., Shafaroodi H., Dehpour A.R. Novel fused 1,2,3-triazolo-benzodiazepine derivatives as potent anticonvulsant agents: design, synthesis, in vivo, and in silico evaluations // Molecular diversity. — 2020. — Vol. 24. — No. 1. — P. 179-189.

167. Jain D., Singh A., Patel V., Veerasamy R., Aggarwal N., Rajak H. Drug Design Strategies for the Discovery of Novel Anticonvulsants Concerned with Four Site Binding Pharmacophoric Model Studies // Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry. — 2017. — Vol. 17. — No. 1. — P. 30-50.

168. Unverferth K., Engel J., Höfgen N., Rostock A., Günther R., Lankau H.J., Menzer M., Rolfs A., Liebscher J., Müller B., Hofmann H.J. Synthesis, anticonvulsant activity, and structure-activity relationships of sodium channel blocking 3-aminopyrroles // Journal of medicinal chemistry. — 1998. — Vol. 41. — No. 1. — P. 63-73.

169. Deng X.Q., Song M.X., Gong G.H., Wang S. Ben, Quan Z.S. Synthesis and anticonvulsant evaluation of some new 6-(substituted-phenyl)thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole derivatives in mice // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. — 2014. — Vol. 13. — No. 2. — P. 459-469.

170. Tripathi L., Kumar P., Singh R., Stables J.P. Design, synthesis and anticonvulsant evaluation of novel N-(4-substituted phenyl)-2-[4-(substituted) benzylidene]-hydrazinecarbothio amides // European journal of medicinal chemistry. — 2012. — Vol. 47. — No. 1. — P. 153-166.

171. Bai Y., He X., Bai Y., Sun Y., Zhao Z., Chen X., Li B., Xie J., Li Y., Jia P., Meng X., Zhao Y., Ding Y., Xiao C., Wang S., Yu J., Liao S., Zhang Y., Zhu Z., Zhang Q., Zhao Y., Qin F., Zhang Y., Wei X., Zeng M., Liang J., Cuan Y., Shan G., Fan T.P., Wu B., Zheng X.

Polygala tenuifolia-Acori tatarinowii herbal pair as an inspiration for substituted cinnamic α-asaronol esters: Design, synthesis, anticonvulsant activity, and inhibition of lactate dehydrogenase study // European journal of medicinal chemistry. — 2019. — Vol. 183. — P. 111650.

172. Dehestani L., Ahangar N., Hashemi S.M., Irannejad H., Honarchian Masihi P., Shakiba A., Emami S. Design, synthesis, in vivo and in silico evaluation of phenacyl triazole hydrazones as new anticonvulsant agents // Bioorganic chemistry. — 2018. — Vol. 78. — P. 119-129.

173. Sahu M., Siddiqui N., Sharma V., Wakode S. 5,6-Dihydropyrimidine-1(2H)-carbothioamides: Synthesis, in vitro GABA-AT screening, anticonvulsant activity and molecular modelling study // Bioorganic chemistry. — 2018. — Vol. 77. — P. 56-67.

174. Marzouk A.A., Bass A.K.A., Ahmed M.S., Abdelhamid A.A., Elshaier Y.A.M.M., Salman A.M.M., Aly O.M. Design, synthesis and anticonvulsant activity of new imidazolidindione and imidazole derivatives // Bioorganic chemistry. — 2020. — Vol. 101. — P. 104020.

175. Kamiński K., Rapacz A., Łuszczki J.J., Latacz G., Obniska J., Kieć-Kononowicz K., Filipek B. Design, synthesis and biological evaluation of new hybrid anticonvulsants derived from N-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide derivatives // Bioorganic & medicinal chemistry. — 2015. — Vol. 23. — No. 10. — P. 2548-2561.

176. Kamiński K., Rapacz A., Filipek B., Obniska J. Design, synthesis and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from N-phenyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)-propanamides and -butanamides // Bioorganic & medicinal chemistry. — 2016. — Vol. 24. — No. 13. — P. 2938-2946.

177. Abram M., Jakubiec M., Rapacz A., Mogilski S., Latacz G., Kamiński R.M., Kamiński K. The Search for New Anticonvulsants in a Group of (2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)(phenyl)Acetamides with Hybrid Structure—Synthesis and In Vivo/In Vitro Studies // International Journal of Molecular Sciences. — 2020. — Vol. 21. — No. 22. — P. 8780.

178. Kamiński K., Zagaja M., Łuszczki J.J., Rapacz A., Andres-Mach M., Latacz G., Kieć-Kononowicz K. Design, synthesis, and anticonvulsant activity of new hybrid compounds derived from 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamides and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamides // Journal of medicinal chemistry. — 2015. — Vol. 58. — No. 13. — P. 5274-5286.

179. Zagaja M., Szewczyk A., Szala-Rycaj J., Raszewski G., Chrościńska-Krawczyk M., Abram M., Kamiński K., Andres-Mach M. C-11, a New Antiepileptic Drug Candidate:

Evaluation of the Physicochemical Properties and Impact on the Protective Action of Selected Antiepileptic Drugs in the Mouse Maximal Electroshock-Induced Seizure Model // Molecules (Basel, Switzerland). — 2021. — Vol. 26. — No. 11. — P. 3144.

180. Abram M., Rapacz A., Mogilski S., Latacz G., Lubelska A., Kamiński R.M., Kamiński K. Multitargeted Compounds Derived from (2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)(phenyl)-Acetamides as Candidates for Effective Anticonvulsant and Antinociceptive Agents // ACS chemical neuroscience. — 2020. — Vol. 11. — No. 13. — P. 1996-2008.

181. Kamiński K., Mogilski S., Abram M., Rapacz A., Latacz G., Szulczyk B., Walczak M., Kuś K., Matyjaszczyk K., Kamiński R.M. KA-104, a new multitargeted anticonvulsant with potent antinociceptive activity in preclinical models // Epilepsia. — 2020. — Vol. 61. — No. 10. — P. 2119-2128.

182. Davidson S.M., Ferdinandy P., Andreadou I., Bøtker H.E., Heusch G., Ibáñez B., Ovize M., Schulz R., Yellon D.M., Hausenloy D.J., Garcia-Dorado D. Multitarget Strategies to Reduce Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: JACC Review Topic of the Week // Journal of the American College of Cardiology. — 2019. — Vol. 73. — No. 1. — P. 89-99.

183. Budillon A., Bruzzese F., Gennaro E., Caraglia M. Multiple-Target Drugs: Inhibitors of Heat Shock Protein 90 and of Histone Deacetylase // Current Drug Targets. — 2005. — Vol. 6. — No. 3. — P. 337-351.

184. Nattel S., Carlsson L. Innovative approaches to anti-arrhythmic drug therapy // Nature Reviews Drug Discovery. — 2006. — Vol. 5. — No. 12. — P. 1034-1049.

185. Barman M. Proarrhythmic Effects Of Antiarrhythmic Drugs: Case Study Of Flecainide Induced Ventricular Arrhythmias During Treatment Of Atrial Fibrillation // Journal of Atrial Fibrillation. — 2015. — Vol. 8. — No. 4. — P. 1091.

186. Polak S., Pugsley M.K., Stockbridge N., Garnett C., Wiśniowska B. Early Drug Discovery Prediction of Proarrhythmia Potential and Its Covariates // The AAPS Journal. — 2015. — Vol. 17. — No. 4. — P. 1025.

187. Song L., Zhang Z., Hu L., Zhang P., Cao Z., Liu Z., Zhang P., Ma J. Curcumin, a Multi-Ion Channel Blocker That Preferentially Blocks Late Na+ Current and Prevents I/R-Induced Arrhythmias // Frontiers in Physiology. — 2020. — Vol. 11. — P. 978.

188. Der Sarkissian S., Aceros H., Williams P.M., Scalabrini C., Borie M., Noiseux N. Heat shock protein 90 inhibition and multi-target approach to maximize cardioprotection in ischaemic injury // British Journal of Pharmacology. — 2020. — Vol. 177. — No. 15. — P. 3378-3388.

189. Mirams G.R., Cui Y., Sher A., Fink M., Cooper J., Heath B.M., McMahon N.C., Gavaghan D.J., Noble D. Simulation of multiple ion channel block provides improved early

prediction of compounds' clinical torsadogenic risk // Cardiovascular research. — 2011. — Vol. 91. — No. 1. — P. 53-61.

190. Martin R.L., McDermott J.S., Salmen H.J., Palmatier J., Cox B.F., Gintant G.A. The utility of hERG and repolarization assays in evaluating delayed cardiac repolarization: influence of multi-channel block // Journal of cardiovascular pharmacology. — 2004. — Vol. 43. — No. 3. — P. 369-379.

191. Kodama I., Kamiya K., Toyama J. Cellular electropharmacology of amiodarone // Cardiovascular research. — 1997. — Vol. 35. — No. 1. — P. 13-29.

192. Bean B.P. Classes of calcium channels in vertebrate cells // Annual review of physiology. — 1989. — Vol. 51. — P. 367-384.

193. Szentandrassy N., Nagy D., Hegyi B., Magyar J., Banyasz T., P. Nanasi P. Class IV Antiarrhythmic Agents: New Compounds Using an Old Strategy // Current Pharmaceutical Design. — 2015. — Vol. 21. — No. 8. — P. 977-1010.

194. Godfraind T. Discovery and Development of Calcium Channel Blockers // Frontiers in Pharmacology. — 2017. — Vol. 8. — No. MAY. — P. 286.

195. Njegic A., Wilson C., Cartwright E.J. Targeting Ca2 + Handling Proteins for the Treatment of Heart Failure and Arrhythmias // Frontiers in Physiology. — 2020. — Vol. 11. — P. 1068.

196. Fermini B., Ramirez D.S., Sun S., Bassyouni A., Hemkens M., Wisialowski T., Jenkinson S. L-type calcium channel antagonism – Translation from in vitro to in vivo // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. — 2017. — Vol. 84. — P. 86-92.

197. Fahie S., Cassagnol M. Verapamil // In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. — StatPearls Publishing, 2021.

198. Eisenberg M.J., Brox A., Bestawros A.N. Calcium channel blockers: an update // The American Journal of Medicine. — 2004. — Vol. 116. — No. 1. — P. 35-43.

199. US Patent 3261859: опубл. 1966 / F. Dengel.

200. Balasubramanian B., Imredy J.P., Kim D., Penniman J., Lagrutta A., Salata J.J. Optimization of Cav1.2 screening with an automated planar patch clamp platform // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. — 2009. — Vol. 59. — No. 2. — P. 62-72.

201. DE Patent 2460593 A1: опубл. 1975 / H. Ramuz.

202. Eigenmann R., Blaber L., Nakamura K., Thorens S., Haeusler G. Tiapamil, a new calcium antagonist. 1. Demonstration of calcium antagonistic activity and related studies // Arzneimittel-Forschung. — 1981. — Vol. 31. — No. 9. — P. 1393-1401.

203. Hoick M., Osterrieder W. Tiapamil // Cardiovascular Drug Reviews. — 1987. — Vol. 5. — No. 1. — P. 77-94.

204. Reiffen M., Eberlein W., Mueller P., Psiorz M., Noll K., Heider J., Lillie C., Kobinger W., Luger P. Specific bradycardic agents. 1. Chemistry, pharmacology, and structure-activity relationships of substituted benzazepinones, a new class of compounds exerting antiischemic properties // Journal of Medicinal Chemistry. — 1990. — Vol. 33. — No. 5. — P. 1496-1504.

205. UK Patent 2159815: опубл. 1985 / G.C. Buzby.

206. US Patent 4587360: опубл. 1986 / G.C. Buzby.

207. Silver P.J., Fenichel R., Wendt R.L. Structural variants of verapamil and W-7 with combined Ca2+ entry blockade/myosin phosphorylation inhibitory mechanisms // Journal of cardiovascular pharmacology. — 1988. — Vol. 11. — No. 3. — P. 299-307.

208. US Patent 4957925: опубл. 1990 / J. Gubin, P. Chatelain, M. Descamps, D. Nisato, H. Inion, J. Lucchetti, J.-M. Mahaux, J.-N. Vallat.

209. Gubin J., Vogelaer H. de, Inion H., Houben C., Lucchetti J., Mahaux J., Rosseels G., Peiren M., Clinet M. Novel heterocyclic analogs of the new potent class of calcium entry blockers: 1-[[4-(aminoalkoxy)phenyl]sulfonyl]indolizines // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 36. — No. 10. — P. 1425-1433.

210. Yamamoto K., Fujita M., Tabashi K., Kawashima Y., Kato E., Oya M., Iso T., Iwao J. Novel calcium antagonists. Synthesis and structure-activity relationship studies of benzothiazoline derivatives // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 31. — No. 5. — P. 919-930.

211. Fujita M., Ito S., Ota A., Kato N., Yamamoto K., Kawashima Y., Yamauchi H., Iwao J. Synthesis and calcium ion antagonistic activity of 2-[2-[(aminoalkyl)oxy]-5-methoxyphenyl]-3,4-dihydro-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazines // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 33. — No. 7. — P. 1898-1905.

212. Campiani G., Garofalo A., Fiorini I., Botta M., Nacci V., Tafi A., Chiarini A., Budriesi R., Bruni G., Romeo M.R. Pyrrolo[2,1-c][1,4]benzothiazines: Synthesis, Structure-Activity Relationships, Molecular Modeling Studies, and Cardiovascular Activity // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 38. — No. 22. — P. 4393-4410.

213. US Patent 5462936: опубл. 1995 / T. Yamamori, H. Harada, K. Sakai, K. Iwaki, K. Matsunaga.

214. Mehanna A.S., Maher T.J., Grongsaard P.P. Design, Synthesis and Calcium Channel Blocking Activity of Diltiazem-Verapamil Hybrid Molecules // Med chem. — 2014. — Vol. 4. — No. 10. — P. 704-703.

215. Postea O., Biel M. Exploring HCN channels as novel drug targets // Nature reviews. Drug discovery. — 2011. — Vol. 10. — No. 12. — P. 903-914.

216. Peter Larsson H. How is the heart rate regulated in the sinoatrial node? Another piece to the puzzle // Journal of General Physiology. — 2010. — Vol. 136. — No. 3. — P. 237-241.

217. Cao Y., Pang J., Zhou P. HCN Channel as Therapeutic Targets for Heart Failure and Pain // Current Topics in Medicinal Chemistry. — 2015. — Vol. 16. — No. 16. — P. 1855-1861.

218. Roubille F., Tardif J.-C. New Therapeutic Targets in Cardiology // Circulation. — 2013. — Vol. 127. — No. 19. — P. 1986-1996.

219. Romanelli M.N., Sartiani L., Masi A., Mannaioni G., Manetti D., Mugelli A., Cerbai E. HCN Channels Modulators: The Need for Selectivity // Current Topics in Medicinal Chemistry. — 2016. — Vol. 16. — No. 16. — P. 1764.

220. Goethals M., Raes A., Bogaert P.P. van Use-dependent block of the pacemaker current I(f) in rabbit sinoatrial node cells by zatebradine (UL-FS 49). On the mode of action of sinus node inhibitors. // Circulation. — 1993. — Vol. 88. — No. 5. — P. 2389-2401.

221. Bomhard A., Reiffen M., Heider J., Psiorz M., Lillie C. Specific bradycardic agents. 2. Heteroaromatic modifications in the side chain of specific bradycardic benzazepinones: chemistry, pharmacology, and structure-activity relationships // Journal of Medicinal Chemistry. — 1991. — Vol. 34. — No. 3. — P. 942-947.

222. US Patent 5175157: опубл. 1990 / C. Lillie, W. Kobinger.

223. Granetzny A., Schwanke U., Schmitz C., Arnold G., Schäfer D., Schulte H.D., Gams E., Schipke J.D. Pharmacologic Heart Rate Reduction: Effect of a Novel, Specific Bradycardic Agent on the Heart // The Thoracic and Cardiovascular Surgeon. — 1998. — Vol. 46. — No. 02. — P. 63-69.

224. Van Bogaert P.P., Pittoors F. Use-dependent blockade of cardiac pacemaker current (If) by cilobradine and zatebradine // European Journal of Pharmacology. — 2003. — Vol. 478. — No. 2-3. — P. 161-171.

225. Stieber J., Wieland K., Stöckl G., Ludwig A., Hofmann F. Bradycardic and Proarrhythmic Properties of Sinus Node Inhibitors // Molecular Pharmacology. — 2006. — Vol. 69. — No. 4. — P. 1328-1337.

226. Kakefuda A., Watanabe T., Taguchi Y., Masuda N., Tanaka A., Yanagisawa I. Synthesis and Pharmacological Evaluation of 2-(3-Piperidyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline Derivatives as Specific Bradycardic Agents // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. — 2003. — Vol. 51. — No. 4. — P. 390-398.

227. Kubota H., Kakefuda A., Watanabe T., Taguchi Y., Ishii N., Masuda N., Sakamoto S., Tsukamoto S.I. (±)-2-(3-Piperidyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines as a new class of specific

bradycardic agents // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. — 2003. — Vol. 13. — No. 13. — P. 2155-2158.

228. Kubota H., Kakefuda A., Watanabe T., Ishii N., Wada K., Masuda N., Sakamoto S., Shin-ichi T. Synthesis and Pharmacological Evaluation of 1-Oxo-2-(3-piperidyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines and Related Analogues as a New Class of Specific Bradycardic Agents Possessing If Channel Inhibitory Activity // Journal of Medicinal Chemistry. — 2003. — Vol. 46. — No. 22. — P. 4728-4740.

229. Kubota H., Watanabe T., Kakefuda A., Masuda N., Wada K., Ishii N., Sakamoto S., Tsukamoto S. Synthesis and pharmacological evaluation of N-acyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives as novel specific bradycardic agents // Bioorganic & Medicinal Chemistry. — 2004. — Vol. 12. — No. 5. — P. 871-882.

230. Umehara K.-I., Susaki Y., van Teylingen R.H.J., Neat J.N., Ndikum-moffor F., Noguchi K., Usui T., Parkinson A., Kamimura H. Evaluation of the inhibitory and induction potential of YM758, a novel If channel inhibitor, for human P450-mediated metabolism // European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics. — 2008. — Vol. 33. — No. 4. — P. 211-223.

231. US Patent 5296482: опубл. 1994 / J.-L. Peglion, J. Vian, J.-P. Vilaine, N. Villeneuve, P. Janiak, J.-P. Bidouard.

232. Thollon C., Bedut S., Villeneuve N., Cogé F., Piffard L., Guillaumin J.-P., Brunel-Jacquemin C., Chomarat P., Boutin J.-A., Peglion J.-L., Vilaine J.-P. Use-dependent inhibition of hHCN4 by ivabradine and relationship with reduction in pacemaker activity // British Journal of Pharmacology. — 2007. — Vol. 150. — No. 1. — P. 37-46.

233. Thollon C., Cambarrat C., Vian J., Prost J.-F., Peglion J.L., Vilaine J.P. Electrophysiological effects of S 16257, a novel sino-atrial node modulator, on rabbit and guinea-pig cardiac preparations: comparison with UL-FS 49 // British Journal of Pharmacology. — 1994. — Vol. 112. — No. 1. — P. 37-42.

234. Psotka M.A., Teerlink J.R. Ivabradine // Circulation. — 2016. — Vol. 133. — No. 21. — P. 2066-2075.

235. US Patent 8076325 B2: опубл. 2011 / J.-L. Peglion, B. Goument, A. Dessinges, P. Caignard, J.-P. Vilaine, C. Thollon, N. Villeneuve, S. Chimenti.

236. Bom A., Booth S., Bruin J., Clark J., Miller S., Wathey B. Parallel solid-Phase synthesis of zatebradine analogues as potential If channel blockers // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. — 2001. — Vol. 11. — No. 17. — P. 2351-2354.

237. Novella Romanelli M., Cerbai E., Dei S., Guandalini L., Martelli C., Martini E., Scapecchi S., Teodori E., Mugelli A. Design, synthesis and preliminary biological evaluation of

zatebradine analogues as potential blockers of the hyperpolarization-activated current // Bioorganic & Medicinal Chemistry. — 2005. — Vol. 13. — No. 4. — P. 1211-1220.

238. Melchiorre M., Lungo M. Del, Guandalini L., Martini E., Dei S., Manetti D., Scapecchi S., Teodori E., Sartiani L., Mugelli A., Cerbai E., Romanelli M.N. Design, Synthesis, and Preliminary Biological Evaluation of New Isoform-Selective f-Current Blockers // Journal of Medicinal Chemistry. — 2010. — Vol. 53. — No. 18. — P. 6773-6777.

239. Del Lungo M., Melchiorre M., Guandalini L., Sartiani L., Mugelli A., Koncz I., Szel T., Varro A., Novella Romanelli M., Cerbai E. Novel blockers of hyperpolarization-activated current with isoform selectivity in recombinant cells and native tissue Correspondence // Br J Pharmacol. — 2012. — Vol. 166. — No. 2. — P. 602-616.

240. Rieu J.P., Duflos A., Tristani J.C., Patoiseau J.F., Tisne-Versailles J., Bessac A.M., Bonnafous R., Marty A., Verscheure Y., Bigg D.C.H. Synthesis and Bradycardic Activity of a Series of Substituted 3-Aminoalkyl-2,3-dihydro-4H-1,3-benzoxazin-4-ones as Potent Antiischemics. // European Journal of Medicinal Chemistry. — 1993. — Vol. 28. — No. 9. — P. 683-691.

241. Beyder A., Rae J.L., Bernard C., Strege P.R., Sachs F., Farrugia G. Mechanosensitivity of Nav1.5, a voltage-sensitive sodium channel // The Journal of Physiology. — 2010. — Vol. 588. — No. 24. — P. 4969-4985.

242. Catterall W.A., Perez-Reyes E., Snutch T.P., Striessnig J. International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Voltage-Gated Calcium Channels // Pharmacological Reviews. — 2005. — Vol. 57. — No. 4. — P. 411-425.

243. Hugues A. Roles and regulation of the cardiac sodium channel Nav1.5: Recent insights from experimental studies // Cardiovascular Research. — 2007. — Vol. 76. — No. 3. — P. 381-389.

244. Remme C.A., Verkerk A.O., Hoogaars W.M.H., Aanhaanen W.T.J., Scicluna B.P., Annink C., van den Hoff M.J.B., Wilde A.A.M., van Veen T.A.B., Veldkamp M.W., de Bakker J.M.T., Christoffels V.M., Bezzina C.R. The cardiac sodium channel displays differential distribution in the conduction system and transmural heterogeneity in the murine ventricular myocardium // Basic Research in Cardiology. — 2009. — Vol. 104. — No. 5. — P. 511-522.

245. Lei M., Wu L., Terrar D.A., Huang C.L.H. Modernized classification of cardiac antiarrhythmic drugs. Vol. 138. — Lippincott Williams and Wilkins, 2018.

246. Knollmann B.C., Roden D.M. Antiarrhythmic Drugs // Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13e/ eds. L.L. Brunton, R. Hilal-Dandan, B.C.

Knollmann. — New York, NY: McGraw-Hill Education, 2017.

247. Gillis A., Singh B., Smith T., Cain M., Kadish A., Weiberg K., Goldberger J. Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside. — Saunders; 4th edition, 2004. — 911–965 p.

248. Horváth B., Hézső T., Kiss D., Kistamás K., Magyar J., Nánási P.P., Bányász T. Late Sodium Current Inhibitors as Potential Antiarrhythmic Agents // Frontiers in Pharmacology. — 2020. — Vol. 11. — P. 413.

249. Antzelevitch C., Nesterenko V., Shryock J.C., Rajamani S., Song Y., Belardinelli L. The Role of Late INa in Development of Cardiac Arrhythmias // Handbook of Experimental Pharmacology. — 2014. — Vol. 221. — P. 137-168.

250. US Patent 4567264: опубл. 1986 / A.F. Kluge, R.D. Clark, A.M. Strosberg, J.-C.G. Pascal, R. Whiting.

251. Cocco G., Rousseau M.F., Bouvy T., Cheron P., Williams G., Detry J.M., Pouleur H. Effects of a new metabolic modulator, ranolazine, on exercise tolerance in angina pectoris patients treated with β-blocker or diltiazem // Journal of Cardiovascular Pharmacology. — 1992. — Vol. 20. — No. 1. — P. 131.

252. Reed M., Kerndt C.C., Gopal S., Nicolas D. Ranolazine // StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. — StatPearls Publishing, 2021.

253. López-Ortiz M., Monsalvo I., Demare P., Paredes C., Mascher D., Hernández C., Hernández M., Regla I. Synthesis of Ranolazine Derivatives Containing the (1S,4S)-2,5-Diazabicyclo[2.2.1]Heptane Moiety and Their Evaluation as Vasodilating Agents // Chemical Biology & Drug Design. — 2014. — Vol. 83. — No. 6. — P. 710-720.

254. Garner J.A., Hearse D.J., Bernier M. R56865, a potent new antiarrhythmic agent, effective during ischemia and reperfusion in the rat heart // Journal of cardiovascular pharmacology. — 1990. — Vol. 16. — No. 3. — P. 468-479.

255. Le Grand B., Coulombe A., John G.W. Late sodium current inhibition in human isolated cardiomyocytes by R 56865 // Journal of cardiovascular pharmacology. — 1998. — Vol. 31. — No. 5. — P. 800-804.

256. Létienne R., Vié B., Le Grand B. Pharmacological characterisation of sodium channels in sinoatrial node pacemaking in the rat heart // European Journal of Pharmacology. — 2006. — Vol. 530. — No. 3. — P. 243-249.

257. Himmel H.M., Wilhelm D., Ravens U. Effects of R56865 on membrane currents in isolated ventricular cardiomyocytes of the guinea-pig // European Journal of Pharmacology. — 1990. — Vol. 187. — No. 2. — P. 235-240.

258. US Patent 5547967: опубл. 1996 / W. Kehrbach, M. Mlinaric, D. Ziegler, R. Brueckner, W. Bielenberg.

259. John G.W., Létienne R., Grand B. Le, Pignier C., Vacher B., Patoiseau J.-F., Colpaert F.C., Coulombe A. KC 12291: An Atypical Sodium Channel Blocker with Myocardial Antiischemic Properties // Cardiovascular Drug Reviews. — 2004. — Vol. 22. — No. 1. — P. 17-26.

260. Decking U.K.M., Hartmann M., Rose H., Brückner R., Meil J., Schrader J. Cardioprotective actions of KC 12291 I. Inhibition of voltage-gated Na+ channels in ischemia delays myocardial Na+ overload // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. — 1998. — Vol. 358. — No. 5. — P. 547-553.

261. Le Grand B., Pignier C., Létienne R., Cuisiat F., Rolland F., Mas A., Vacher B. Sodium late current blockers in ischemia reperfusion: is the bullet magic? // Journal of medicinal chemistry. — 2008. — Vol. 51. — No. 13. — P. 3856-3866.

262. Catterall W.A. From Ionic Currents to Molecular Mechanisms: The Structure and Function of Voltage-Gated Sodium Channels // Neuron. — 2000. — Vol. 26. — No. 1. — P. 13-25.

263. Vié B., Sablayrolles S., Létienne R., Vacher B., Darmellah A., Bernard M., Feuvray D., Grand B. Le 3-(R)-[3-(2-Methoxyphenylthio-2-(S)-methylpropyl]amino-3,4-dihydro-2H-1,5-benzoxathiepine Bromhydrate (F 15845) Prevents Ischemia-Induced Heart Remodeling by Reduction of the Intracellular Na+ Overload // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2009. — Vol. 330. — No. 3. — P. 696-703.

264. Koltun D.O., Parkhill E.Q., Elzein E., Kobayashi T., Notte G.T., Kalla R., Jiang R.H., Li X., Perry T.D., Avila B., Wang W.Q., Smith-Maxwell C., Dhalla A.K., Rajamani S., Stafford B., Tang J., Mollova N., Belardinelli L., Zablocki J.A. Discovery of triazolopyridine GS-458967, a late sodium current inhibitor (Late INai) of the cardiac NaV 1.5 channel with improved efficacy and potency relative to ranolazine // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. — 2016. — Vol. 26. — No. 13. — P. 3202-3206.

265. Koltun D.O., Parkhill E.Q., Elzein E., Kobayashi T., Jiang R.H., Li X., Perry T.D., Avila B., Wang W.Q., Hirakawa R., Smith-Maxwell C., Wu L., Dhalla A.K., Rajamani S., Mollova N., Stafford B., Tang J., Belardinelli L., Zablocki J.A. Discovery of triazolopyridinone GS-462808, a late sodium current inhibitor (Late INai) of the cardiac Nav1.5 channel with improved efficacy and potency relative to ranolazine // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. — 2016. — Vol. 26. — No. 13. — P. 3207-3211.

266. Zablocki J.A., Elzein E., Li X., Koltun D.O., Parkhill E.Q., Kobayashi T., Martinez R., Corkey B., Jiang H., Perry T., Kalla R., Notte G.T., Saunders O., Graupe M., Lu Y., Venkataramani C., Guerrero J., Perry J., Osier M., Strickley R., Liu G., Wang W.-Q., Hu L., Li X.-J., El-Bizri N., Hirakawa R., Kahlig K., Xie C., Li C.H., Dhalla A.K., Rajamani S., Mollova

N., Soohoo D., Lepist E.-I., Murray B., Rhodes G., Belardinelli L., Desai M.C. Discovery of Dihydrobenzoxazepinone (GS-6615) Late Sodium Current Inhibitor (Late INai), a Phase II Agent with Demonstrated Preclinical Anti-Ischemic and Antiarrhythmic Properties // Journal of Medicinal Chemistry. — 2016. — Vol. 59. — No. 19. — P. 9005-9017.

267. Vandenberg J.I., Perry M.D., Perrin M.J., Mann S.A., Ke Y., Hill A.P. hERG K+ Channels: Structure, Function, and Clinical Significance // Physiological Reviews. — 2012. — Vol. 92. — No. 3. — P. 1393-1478.

268. Butler A., Helliwell M. V., Zhang Y., Hancox J.C., Dempsey C.E. An Update on the Structure of hERG // Frontiers in Pharmacology. — 2020. — Vol. 11. — P. 1572.

269. GB Patent 8610668: опубл. 1987 / J.E. Arrowsmith, P.E. Cross, G.N. Thomas.

270. Cross P.E., Arrowsmith J.E., Thomas G.N., Gwilt M., Burges R.A., Higgins A.J. Selective class III antiarrhythmic agents. 1. Bis(arylalkyl)amines // Journal of Medicinal Chemistry. — 1990. — Vol. 33. — No. 4. — P. 1151-1155.

271. Orvos P., Kohajda Z., Szlovák J., Gazdag P., Árpádffy-Lovas T., Tóth D., Geramipour A., Tálosi L., Jost N., Varró A., Virág L. Evaluation of Possible Proarrhythmic Potency: Comparison of the Effect of Dofetilide, Cisapride, Sotalol, Terfenadine, and Verapamil on hERG and Native IKr Currents and on Cardiac Action Potential // Toxicological Sciences. — 2019. — Vol. 168. — No. 2. — P. 365-380.

272. Wolbrette D.L., Hussain S., Maraj I., Naccarelli G. V. A Quarter of a Century Later: What is Dofetilide's Clinical Role Today?: // Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics. — 2018. — Vol. 24. — No. 1. — P. 3-10.

273. Liu H., Ji M., Luo X., Shen J., Huang X., Hua W., Hualiang J., Kaixian C. New p-Methylsulfonamido Phenylethylamine Analogues as Class III Antiarrhythmic Agents: Design, Synthesis, Biological Assay, and 3D-QSAR Analysis // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 45. — No. 14. — P. 2953-2969.

274. Wang T., Huang Z.-J., Dai D.-Z., Ji M. Comparison of effects of dofetilide derivative V03(CPU228) and dofetilide on coronary occlusion and reperfusion arrhythmia, vascular contractions and proarrhythmic potential of torsade de pointes // Chinese Pharmacological Bulletin. — 2004. — Vol. 20. — No. 5. — P. 516-520.

275. Baskin E., Serik C., Wallace A., Brookes L., Selnick H., Claremon D., Lynch J. Effects of new and potent methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agents on myocardial refractoriness and contractility in isolated cardiac muscle // Journal of cardiovascular pharmacology. — 1991. — Vol. 18. — No. 3. — P. 406-414.

276. US Patent 4806536: опубл. 1989 / P.E. Cross, R.P. Dickinson.

277. Rees S.A., Curtis M.J. Selective IK blockade as an antiarrhythmic mechanism:

effects of UK66,914 on ischaemia and reperfusion arrhythmias in rat and rabbit hearts // British Journal of Pharmacology. — 1993. — Vol. 108. — No. 1. — P. 139-145.

278. JP Patent 3927086: опубл. 1987 / H. Oinuma.

279. Sanguinetti M.C., Jurkiewicz N.K. Two components of cardiac delayed rectifier K+ current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. // Journal of General Physiology. — 1990. — Vol. 96. — No. 1. — P. 195-215.

280. Kim D.I., Kim H.Y., Kwon L.S., Park S.D., Jeon G.H., Jung K.Y., Min J.K., Nam W.H., Lee K., Chung Y.S., Tanabe S., Kozono T. Synthesis and biological activity of KCB-328 and its analogues: Novel class III antiarrhythmic agents with little reverse frequency dependence // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. — 1999. — Vol. 9. — No. 1. — P. 85-90.

281. Kanojia R.M., Salata J.J., Kauffman J. Synthesis and class III type antiarrhythmic activity of 4-aroyl (and aryl)-1-aralkylpiperazines // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. — 2000. — Vol. 10. — No. 24. — P. 2819-2823.

282. Hong L., Min J., Ligang L., Song J., Weiyi H., Ruimei L. Synthesis and Antiarrhythmic Activity of Some Methyl sulfonamido phenylethylamino Derivatives // Journal of China Pharmacevtical University. — 1999. — Vol. 30. — No. 1. — P. 7-12.

283. Li P., Sun H., Zhou P., Ma C., Hu G., Jiang H., Li M., Liu H., Gao Z. Comparison of the effects of DC031050, a class III antiarrhythmic agent, on hERG channel and three neuronal potassium channels // Acta Pharmacologica Sinica. — 2012. — Vol. 33. — No. 6. — P. 728-736.

284. US Patent 4556662: опубл. 1985 / F. Binnig, C.D. Mueller, M. Raschack, G. von Philipsborn.

285. Walker B.D., Singleton C.B., Tie H., Bursill J.A., Wyse K.R., Valenzuela S.M., Breit S.N., Campbell T.J. Comparative effects of azimilide and ambasilide on the human ether-a-go-go-related gene (HERG) potassium channel // Cardiovascular Research. — 2000. — Vol. 48. — No. 1. — P. 44-58.

286. US Patent 4959373: опубл. 1990 / W. Lubisch, F. Binnig, G. von Philipsborn.

287. Katakami T., Yokoyama T., Miyamoto M., Mori H., Kawauchi N., Nobori T., Sannohe K., Kaiho T., Kamiya J. Synthesis and pharmacological studies of N-substituted 6-[(2-aminoethyl)amino]-1,3-dimethyl-2,4(1H,3H)-pyrimidinediones, novel class III antiarrhythmic agents // Journal of Medicinal Chemistry. — 1992. — Vol. 35. — No. 18. — P. 3325-3330.

288. US Patent 4977166: опубл. 1990 / J.-C. Hardy, C. Renault.

289. Du L., Li M., You Q., Xia L. A novel structure-based virtual screening model for the hERG channel blockers // Biochemical and Biophysical Research Communications. — 2007. — Vol. 355. — No. 4. — P. 889-894.

290. Biliczki P., Acsai K., Virág L., Tálosi L., Jost N., Biliczki A., Papp J.G., Varró A. Cellular electrophysiological effect of terikalant in the dog heart // European Journal of Pharmacology. — 2005. — Vol. 510. — No. 3. — P. 161-166.

291. Elliott J.M., Selnick H.G., Claremon D.A., Baldwin J.J., Buhrow S.A., Butcher J.W., Habecker C.N., King S.W., Jr. J.J.L. 4-Oxospiro[benzopyran-2,4'-piperidines] as class III antiarrhythmic agents. Pharmacological studies on 3,4-dihydro-1'-[2-(benzofurazan-5-yl)ethyl]-6-methanesulfonamidospiro[(2H)-1-benzopyran-2,4'-piperidin]-4-one (L-691,121) // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 35. — No. 21. — P. 3973-3976.

292. Lynch J.J., Wallace A.A., Van der Gaag L.H., Baskin E.P., Bear C.M., Gehret J.R., Kothstein T., Stupienski R.F., Appleby S.D., Sanguinetti M.C. Cardiac electrophysiologic and antiarrhythmic actions of 3,4-dihydro-1'-[2-(benzofurazan-5-yl) ethyl]-6-methanesulfonamidospiro [(2H)-1-benzopyran-2,4'-piperidin]-4-one HCl (L-691,121), a novel class III agent. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 1993. — Vol. 265. — No. 2. — P. 720-730.

293. Fisker F.Y., Grimm D., Wehland M. Third-Generation Beta-Adrenoceptor Antagonists in the Treatment of Hypertension and Heart Failure // Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. — 2015. — Vol. 117. — No. 1. — P. 5-14.

294. Velmurugan B.K., Baskaran R., Huang C.Y. Detailed insight on β-adrenoceptors as therapeutic targets // Biomedicine and Pharmacotherapy. — 2019. — Vol. 117. — P. 109039.

295. Black J.W., Crowther A.F., Shanks R.G., Smith L.H., Dornhorst A.C. A NEW ADRENERGIC: BETA-RECEPTOR ANTAGONIST // The Lancet. — 1964. — Vol. 283. — No. 7342. — P. 1080-1081.

296. Baker J.G., Gardiner S.M., Woolard J., Fromont C., Jadhav G.P., Mistry S.N., Thompson K.S.J., Kellam B., Hill S.J., Fischer P.M. Novel selective β1-adrenoceptor antagonists for concomitant cardiovascular and respiratory disease // The FASEB Journal. — 2017. — Vol. 31. — No. 7. — P. 3150-3166.

297. Howe R., Rao B.S., Chodnekar M.S. .beta.-Adrenergic blocking agents. VII. 2-(1,4-Benzodioxanyl) and 2-chromanyl analogs of pronethalol [2-isopropylamino-1-(2-naphthyl) ethanol] // Journal of medicinal chemistry. — 2002. — Vol. 13. — No. 2. — P. 169-176.

298. US Patent 4654362 A: опубл. 12.10.1984 / G.R.E. Van Lommen, M.F.L. De Bruyn, M.F.J. Schroven.

299. Van de Water A., Janssens W., Van Neuten J., Xhonneux R., De Cree J., Verhaegen H., Reneman R.S., Janssen P.A. Pharmacological and hemodynamic profile of nebivolol, a chemically novel, potent, and selective beta 1-adrenergic antagonist // Journal of cardiovascular

pharmacology. — 1988. — Vol. 11. — No. 5. — P. 552-563.

300. Mangrella M., Rossi F., Fici F., Rossi F. PHARMACOLOGY OF NEBIVOLOL // Pharmacological Research. — 1998. — Vol. 38. — No. 6. — P. 419-431.

301. Weiss R. Nebivolol: A Novel Beta-Blocker with Nitric Oxide-Induced Vasodilatation // Vascular Health and Risk Management. — 2006. — Vol. 2. — No. 3. — P. 303.

302. Olawi N., Krüger M., Grimm D., Infanger M., Wehland M. Nebivolol in the treatment of arterial hypertension // Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. — 2019. — Vol. 125. — No. 3. — P. 189-201.

303. Augstein J., Cox D.A., Ham A.L., Leeming P.R., Sanrey M. .beta.-Adrenoceptor blocking agents. 1. Cardioselective 1-aryloxy-3-(aryloxyalkylamino)propan-2-ols // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 16. — No. 11. — P. 1245-1251.

304. Hoefle M.L., Hastings S.G., Meyer R.F., Corey R.M., Holmes A., Stratton C.D. Cardioselective .beta.-adrenergic blocking agents. 1. 1-[(3,4-Dimethoxyphenethyl)amino]-3-aryloxy-2-propanols // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 18. — No. 2. — P. 148-152.

305. Kreighbaum W.E., Matier W.L., Dennis R.D., Minielli J.L., Deitchman D., Jr. J.L.P., Comer W.T. Antihypertensive indole derivatives of phenoxypropanolamines with .beta.-adrenergic receptor antagonist and vasodilating activity // Journal of Medicinal Chemistry. — 2002. — Vol. 23. — No. 3. — P. 285-289.

306. Hershberger R.E., Wynn J.R., Sundberg L., Bristow M.R. Mechanism of action of bucindolol in human ventricular myocardium // Journal of cardiovascular pharmacology. — 1990. — Vol. 15. — No. 6. — P. 959-967.

307. US Patent 4503067: опубл. 1985 / F. Wiedemann, W. Kampe, M. Thiel, G. Sponer, E. Roesch, K. Dietmann.

308. Ruffolo R.R., Gellai M., Hieble J.P., Willette R.N., Nichols A.J. The pharmacology of carvedilol // European Journal of Clinical Pharmacology. — 1990. — Vol. 38. — No. 2. — P. S82-S88.

309. Mctavish D., Campoli-Richards D., Sorkin E.M., Doggrell S.A. Carvedilol A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy // Drugs. — 1993. — Vol. 45. — No. 2. — P. 232-258.

310. Book W.M. Carvedilol: A Nonselective β Blocking Agent With Antioxidant Properties // Congestive Heart Failure. — 2002. — Vol. 8. — No. 3. — P. 173-190.

311. US Patent 4559354: опубл. 1985 / W. Fuhrer, F. Ostermayer, M. Zimmermann.

312. Dooley D.J., Bittiger H., Reymann N.C. CGP 20712 A: a useful tool for quantitating

β1- and β2-adrenoceptors // European Journal of Pharmacology. — 1986. — Vol. 130. — No. 1-2. — P. 137-139.

313. Mokrov G. V. Linked biaromatic compounds as cardioprotective agents // Archiv der Pharmazie. — 2022. — Vol. 355. — No. 4. — P. 2100428.

314. US Patent 5416066: опубл. 1995 / N. Kaneko, T. Oosawa, T. Sakai, H. Oota.

315. Darcy Y.L., Diaz-Sylvester P.L., Copello J.A. K201 (JTV519) is a Ca2+-Dependent Blocker of SERCA and a Partial Agonist of Ryanodine Receptors in Striated Muscle // Molecular Pharmacology. — 2016. — Vol. 90. — No. 2. — P. 106-115.

316. Kaneko N. New 1,4-benzothiazepine derivative, K201, demonstrates cardioprotective effects against sudden cardiac cell death and intracellular calcium blocking action // Drug Development Research. — 1994. — Vol. 33. — No. 4. — P. 429-438.

317. Hunt D.J., Jones P.P., Wang R., Chen W., Bolstad J., Chen K., Shimoni Y., Chen S.R.W. K201 (JTV519) suppresses spontaneous Ca2+ release and [3H]ryanodine binding to RyR2 irrespective of FKBP12.6 association // Biochemical Journal. — 2007. — Vol. 404. — No. 3. — P. 431-438.

318. Blass B.E., Fensome A., Trybulski E., Magolda R., Gardell S.J., Liu K., Samuel M., Feingold I., Huselton C., Jackson C.M., Djandjighian L., Ho D., Hennan J., Janusz J.M. Selective Kv1.5 Blockers: Development of (R)-1-(Methylsulfonylamino)-3-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-4-(4-methoxyphenyl)-2-imidazolidinone (KVI-020/WYE-160020) as a Potential Treatment for Atrial Arrhythmia // Journal of Medicinal Chemistry. — 2009. — Vol. 52. — No. 21. — P. 6531-6534.

319. Liang H.-Y., Zhang D.-Q., Yue Y., Shi Z., Zhao S.-Y. Synthesis and Biological Activity of Some 1,3-Dihydro-2H-3-benzazepin-2-ones with a Piperazine Moiety as Bradycardic Agents // Archiv der Pharmazie. — 2010. — Vol. 343. — No. 2. — P. 114-119.

320. Varga R.S., Hornyik T., Husti Z., Kohajda Z., Krajsovszky G., Nagy N., Jost N., Virág L., Tálosi L., Mátyus P., Varró A., Baczkó I. Antiarrhythmic and cardiac electrophysiological effects of SZV-270, a novel compound with combined Class I/B and Class III effects, in rabbits and dogs1 // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. — 2021. — Vol. 99. — No. 1. — P. 89-101.

321. Kraft M., Büscher A., Wiedmann F., L'hoste Y., Haefeli W.E., Frey N., Katus H.A., Schmidt C. Current Drug Treatment Strategies for Atrial Fibrillation and TASK-1 Inhibition as an Emerging Novel Therapy Option // Frontiers in Pharmacology. — 2021. — Vol. 12. — P. 191.

322. Ratte A., Wiedmann F., Kraft M., Katus H.A., Schmidt C. Antiarrhythmic Properties of Ranolazine: Inhibition of Atrial Fibrillation Associated TASK-1 Potassium Channels //

Frontiers in Pharmacology. — 2019. — Vol. 10. — P. 1367.

323. Skarsfeldt M.A., Jepps T.A., Bomholtz S.H., Abildgaard L., Sørensen U.S., Gregers E., Svendsen J.H., Diness J.G., Grunnet M., Schmitt N., Olesen S.P., Bentzen B.H. pH-dependent inhibition of K2P3.1 prolongs atrial refractoriness in whole hearts // Pflugers Archiv European Journal of Physiology. — 2016. — Vol. 468. — No. 4. — P. 643-654.

324. Kiper A.K., Rinné S., Rolfes C., Ramírez D., Seebohm G., Netter M.F., González W., Decher N. Kv1.5 blockers preferentially inhibit TASK-1 channels: TASK-1 as a target against atrial fibrillation and obstructive sleep apnea? // Pflügers Archiv - European Journal of Physiology. — 2014. — Vol. 467. — No. 5. — P. 1081-1090.

325. Beik A., Joukar S., Najafipour H. A review on plants and herbal components with antiarrhythmic activities and their interaction with current cardiac drugs // Journal of Traditional and Complementary Medicine. — 2020. — Vol. 10. — No. 3. — P. 275-287.

326. Shaito A., Thuan D.T.B., Phu H.T., Nguyen T.H.D., Hasan H., Halabi S., Abdelhady S., Nasrallah G.K., Eid A.H., Pintus G. Herbal Medicine for Cardiovascular Diseases: Efficacy, Mechanisms, and Safety // Frontiers in Pharmacology. — 2020. — Vol. 11. — P. 422.

327. Sanabria E., Cuenca R.E., Esteso M.Á., Maldonado M. Benzodiazepines: Their Use either as Essential Medicines or as Toxics Substances // Toxics. — 2021. — Vol. 9. — No. 2. — P. 25.

328. Sugasawa Y., Cheng W.W.L., Bracamontes J.R., Chen Z.W., Wang L., Germann A.L., Pierce S.R., Senneff T.C., Krishnan K., Reichert D.E., Covey D.F., Akk G., Evers A.S. Site-specific effects of neurosteroids on gabaa receptor activation and desensitization // eLife. — 2020. — Vol. 9. — P. 1-32.

329. Diviccaro S., Cioffi L., Falvo E., Giatti S., Melcangi R.C. Allopregnanolone: An overview on its synthesis and effects // Journal of neuroendocrinology. — 2022. — Vol. 34. — No. 2. — P. e12996.

330. Bairamova S.P., Petelin D.S., Akhapkin R. V., Kudryashov N. V., Sorokina O.Y., Semin S.A., Panfilova V., Volel B.A. The endogenic neurosteroid system and its role in the pathogenesis and therapy of mental disorders // Research Results in Pharmacology. — 2023. — Vol. 9. — No. 1. — P. 61-69.

331. Mokrov G. V., Deeva O.A., Gudasheva T.A., Yarkov S.A., Yarkova M.A., Seredenin S.B. Design, synthesis and anxiolytic-like activity of 1-arylpyrrolo[1,2-a]pyrazine-3-carboxamides // Bioorganic and Medicinal Chemistry. — 2015. — Vol. 23. — No. 13. — P. 3368-3378.

332. Mokrov G., Pantileev A., Yarkova M., Gudasheva T., Seredenin S. Design, Synthesis and Pharmacological Activity of New Pyrrolo[1,2-A] Pyrazine Translocator Protein

(TSPO) Ligands // Medicinal chemistry (Shariqah (United Arab Emirates)). — 2022. — Vol. 18. — No. 4. — P. 497-508.

333. Мокров Г.В., Пантилеев А.С., Яркова М.А., Рыбина И.В., Гудашева Т.А., Вахитова Ю.В., Середенин С.Б. Дизайн, синтез и изучение анксиолитической активности новых пирроло[1,2-a]пиразин-содержащих лигандов TSPO // Биоорганическая химия. — 2023. — Т. 49. — No. 2. — С. 188-206.

334. Yadav J.S., Reddy B.V.S., Kondaji G., Srinivasa Rao R., Praveen Kumar S. Zinc-mediated acylation and sulfonation of pyrrole and its derivatives // Tetrahedron Letters. — 2002. — Vol. 43. — No. 45. — P. 8133-8135.

335. US Patent 3876660: опубл. 1973 / D.M. Bailey.

336. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. — М.: Гриф и К. — 2012. — 944 с.

337. Середенин С.Б., Ведерников А.А. Влияние психотропных препаратов на поведение инбредных мышей в условиях открытого поля // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 1979. — Т. 88. — No. 7. — С. 38-40.

338. Патент РФ №2572076. 1-Арилпирроло[1,2-a]пиразин-3-карбоксамиды с нейропсихотропной активностью: опубл. 2015 / С.Б. Середенин, Г.В. Мокров, Т.А. Гудашева, О.А. Деева, С.А. Ярков, М.А. Яркова, В.П. Жердев, К.В. Алексеев, А.Д. Дурнев, Г.. Незнамов.

339. Ярков С.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Яркова М.А., Середенин С.Б. Фармакологическое изучение новых соединений – регуляторов 18 кДа транслокаторного белка // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2016. — Т. 79. — No. 1. — С. 7-11.

340. Патент РФ № 2734240. Дифенилпирроло[1,2-a]пиразин-3-карбоксамиды – соединения, обладающие нейропсихотропной активностью, способы их получения: опубл. 2020 / С.Б. Середенин, Г.В. Мокров, М.А. Яркова, А.. Пантилеев, Т.А. Гудашева, А.Д. Дурнев.

341. Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat // Journal of neuroscience methods. — 1985. — Vol. 14. — No. 3. — P. 149-167.

342. Steru L., Chermat R., Thierry B., Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice // Psychopharmacology. — 1985. — Vol. 85. — No. 3. — P. 367-370.

343. Яркова М.А., Поварнина П.Ю., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Антидепрессивный и ноотропный эффекты оригинальных лигандов транслокаторного

белка TSPO ГМЛ-1 и ГМЛ-3 // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2017. — Т. 80. — No. 4. — С. 3-7.

344. Патент РФ № 2699568. Лиганды транслокаторного белка TSPO, обладающие антидепрессивной и ноотропной активностью: опубл. 2019 / С.Б. Середенин, М.А. Яркова, П.Ю. Поварнина, Г.В. Мокров, Т.А. Гудашева.

345. Veenman L., Gavish M. The Role of 18 kDa Mitochondrial Translocator Protein (TSPO) in Programmed Cell Death, and Effects of Steroids on TSPO Expression // Current Molecular Medicine. — 2012. — Vol. 12. — No. 4. — P. 398-412.

346. Leaver K.R., Reynolds A., Bodard S., Guilloteau D., Chalon S., Kassiou M. Effects of translocator protein (18 kDa) ligands on microglial activation and neuronal death in the quinolinic-acid-injected rat striatum // ACS Chemical Neuroscience. — 2012. — Vol. 3. — No. 2. — P. 114-119.

347. Starkov A.A., Beal F.M. Portal to Alzheimer's disease. Vol. 14. — 2008.

348. Du H., Guo L., Fang F., Chen D., A Sosunov A., M McKhann G., Yan Y., Wang C., Zhang H., Molkentin J.D., Gunn-Moore F.J., Vonsattel J.P., Arancio O., Chen J.X., Yan S. Du Cyclophilin D deficiency attenuates mitochondrial and neuronal perturbation and ameliorates learning and memory in Alzheimer's disease // Nature Medicine. — 2008. — Vol. 14. — No. 10. — P. 1097-1105.

349. Chelli B., Falleni A., Salvetti F., Gremigni V., Lucacchini A., Martini C. Peripheral-type benzodiazepine receptor ligands: Mitochondrial permeability transition induction in rat cardiac tissue // Biochemical Pharmacology. — 2001. — Vol. 61. — No. 6.

350. Krestinina O. V., Grachev D.E., Odinokova I. V., Reiser G., Evtodienko Y. V., Azarashvili T.S. Effect of peripheral benzodiazepine receptor (PBR/TSPO) ligands on opening of Ca2+-induced pore and phosphorylation of 3.5-kDa polypeptide in rat brain mitochondria // Biochemistry (Moscow). — 2009. — Vol. 74. — No. 4. — P. 421-429.

351. Kim Y.S., Jung S.H., Park B.G., Ko M.K., Jang H.S., Choi K., Baik J.H., Lee J., Lee J.K., Pae A.N., Cho Y.S., Min S.J. Synthesis and evaluation of oxime derivatives as modulators for amyloid beta-induced mitochondrial dysfunction // European Journal of Medicinal Chemistry. — 2013. — Vol. 62. — No. 4. — P. 71-83.

352. Barron A.M., Garcia-Segura L.M., Caruso D., Jayaraman A., Lee J.W., Melcangi R.C., Pike C.J. Ligand for translocator protein reverses pathology in a mouse model of Alzheimer's disease // Journal of Neuroscience. — 2013. — Vol. 33. — No. 20. — P. 8891-8897.

353. Gatliff J., East D., Crosby J., Abeti R., Harvey R., Craigen W., Parker P., Campanella M. TSPO interacts with VDAC1 and triggers a ROS-mediated inhibition of

mitochondrial quality control // Autophagy. — 2014. — Vol. 10. — No. 12. — P. 2279-2296.

354. Rudolph U., Knoflach F. Beyond classical benzodiazepines: novel therapeutic potential of GABAA receptor subtypes // Nature reviews. Drug discovery. — 2011. — Vol. 10. — No. 9. — P. 685-697.

355. Verloes R., Scotto A.M., Gobert J., Wülfert E. Effects of nootropic drugs in a scopolamine-induced amnesia model in mice // Psychopharmacology. — 1988. — Vol. 95. — No. 2. — P. 226-230.

356. Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Анксиолитическое действие оригинальных производных пирроло[1,2-a]пиразина, лигандов TSPO, зависит от биосинтеза нейростероидов // Химико-фармацевтический журнал. — 2016. — Т. 50. — No. 8. — С. 3-6.

357. Яркова М.А., Блынская Е.В., Юдина Д.В., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Алексеев К.В. Разработка и оценка анксиолитического действия таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 4. — С. 39-43.

358. Яркова М.А., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П., Середенин С.Б., Гегечкори В.И. Поиск взаимосвязи между анксиолитическим действием оригинального производного пирроло [1,2-А] пиразина, лиганда TSPO - ГМЛ-1 и его концентрациями в плазме крови крыс // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2018. — №. 2. — С. 52-58.

359. Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Алексеева С.В., Волкова А.В., Дурнев А.Д. Исследование острой токсичности ГМЛ-1 // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2018. — №. 2. — С. 65-70.

360. Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Волкова А.В., Качалов К.С., Алексеев И.В., Захаров А.Д., Алексеева С.В., Дурнев А.Д. Исследование хронической токсичности потенциального анксиолитика ГМЛ-1 // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2019. — №. 1. — С. 44-53.

361. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Журиков Р.В., Дурнев А.Д. Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксичности таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фениопирроло[1,2-a]пиразин-3- карбоксамида) // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2020. — №. 2. — С. 34-36.

362. Новицкий А.А., Бочков П.О., Шевченко Р.В., Грибакина О.Г., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Яркова М.А., Середенин С.Б. Фармакокинетика потенциального анксиолитика ГМЛ-1 у крыс // Экспериментальная и

клиническая фармакология. — 2018. — Т. 81. — No. 6. — С. 24-28.

363. Новицкий А.А., Бочков П.О., Шевченко Р.В., Грибакина О.Г., Колыванов Г.Б., Жердев В.П., Смирнов В.В., Литвин А.А. Сравнительная фармакокинетика нового анксиолитика ГМЛ-1 у различных видов животных // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2019. — Т. 82. — No. 4. — С. 37-40.

364. Грибакина О.Г., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Новицкий А.А., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П. Изучение влияния анксиолитика ГМЛ-1 на активность изоформ цитохрома CYP2C9 и CYP1A2 // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2019. — №. 2. — С. 36-40.

365. Новицкий А.А., Бочков П.О., Литвин А.А., Жердев В.П., Блынская Е.В. Методика количественного определения N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло [1,2-a] пиразин-3-карбоксамида в плазме крови с использованием ВЭЖХ/МС // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. — 2018. — Т. 59. — No. 1. — С. 43-45.

366. Новицкий А.А., Литвин А.А., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Грибакина О.Г., Колыванов Г.Б., Жердев В.П., Алексеев К.В., Блынская Е.В., Юдина Д.В., Смирнов В.В. равнительная фармакокинетика и относительная биодоступность таблетированной лекарственной формы нового анксиолитика ГМЛ-1 // Вестник Московского Университета. Химия. — 2019. — Т. 60. — No. 4. — С. 270-275.

367. Новицкий А.А., Бочков П.О., Шевченко Р.В., Грибакина О.Г., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П. Метаболизм нового анксиолитического средства ГМЛ-1 у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2018. — Т. 165. — No. 6. — С. 709-711.

368. Патент РФ 2689396. Фармацевтическая композиция на основе N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-a]пиразин-3-карбоксамида: опубл. 2019 / С.Б. Середенин, Т.А. Гудашева, К.В. Алексеев, Е.В. Блынская, Д.В. Юдина, А.С. Михеева, Г.В. Мокров, М.А. Яркова.

369. Юдина Д.В., Блынская Е.В., Алексеев К.В., Минаев С.В., Марахова А.И. Разработка состава таблеток ГМЛ-1, полученных методом влажного гранулирования: выбор наполнителя и связующего // Фармация. — 2018. — Т. 67. — No. 3. — С. 35-40.

370. Юдина Д.В., Блынская Е.В., Алексеев К.В., Минаев С.В., Марахова А.И. Фармацевтическая разработка - инструмент контроля качества оригинального лекарственного средства с анксиолитическим действием // Фармация. — 2018. — Т. 67. — No. 8. — С. 27-36.

371. Гаевая Л.М., Грушевская Л.Н., Сергеева М.С., Дуденкова М.Е., Денисенко

Е.Д., Авдюнина Н.И., Минаев С.В. Разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения нового оригинального соединения с анксиолитической активностью - ГМЛ-1 в таблетках // Биофармацевтический журнал. — 2020. — Т. 12. — No. 6. — С. 70-74.

372. Грушевская Л.Н., Сергеева М.С., Гаевая Л.М., Дуденкова М.Е., Денисенко Е.Д., Авдюнина Н.И., Минаев С.В., Мокров Г.В. Разработка методики определения родственных примесей в субстанции оригинального соединения с анксиолитической активностью - ГМЛ-3 // Химико-фармацевтический журнал. — 2020. — Т. 54. — No. 8. — С. 40-46.

373. Сергеева М.С., Грушевская Л.Н., Гаевая Л.М., Дуденкова М.Е., Денисенко Е.Д., Авдюнина Н.И., Минаев С.В. Валидация методики ВЭЖХ для определения родственных примесей в субстанции нового соединения с нейропсихотропной активностью ГМЛ-1 // Биофармацевтический журнал. — 2019. — Т. 11. — No. 4. — С. 61-66.

374. Igelström K.M. Preclinical antiepileptic actions of selective serotonin reuptake inhibitors--implications for clinical trial design // Epilepsia. — 2012. — Vol. 53. — No. 4. — P. 595-605.

375. Favale E., Rubino V., Mainardi P., Lunardi G., Albano C. Anticonvulsant effect of fluoxetine in humans // Neurology. — 1995. — Vol. 45. — No. 10. — P. 1926-1927.

376. Favale E., Audenino D., Cocito L., Albano C. The anticonvulsant effect of citalopram as an indirect evidence of serotonergic impairment in human epileptogenesis // Seizure. — 2003. — Vol. 12. — No. 5. — P. 316-318.

377. Peričić D., Štrac D.Š., Vlainić J. Zimelidine decreases seizure susceptibility in stressed mice // Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996). — 2006. — Vol. 113. — No. 12. — P. 1863-1871.

378. Vavers E., Zvejniece L., Dambrova M. Sigma-1 receptor and seizures // Pharmacological Research. — 2023. — Vol. 191. — P. 106771.

379. Vamvakides A., Vamvakidès A. Mechanism of action of tetrahydro-N, N-dimethyl-5, 5-diphenyl-3-furanemethanamine, a putative nootropic, anti-epileptic and antidepressant compound // Annales Pharmaceutiques Francaises. — 2002. — Vol. 60. — No. 6. — P. 415-422.

380. Bhattacharya S.K., Mukhopadhyay S.N., Reddy P.K.S.P., Das P.K. Role of brain monoamines in the anticonvulsant effect of imipramine in albino rats // Pharmacology. — 1976. — Vol. 14. — No. 5. — P. 428-434.

381. Fromm G.H., Amores C.Y., Thies W. Imipramine in Epilepsy // Archives of

Neurology. — 1972. — Vol. 27. — No. 3. — P. 198-204.

382. Karakurt A., Alagöz M.A., Sayoğlu B., Çalş Ü., Dalkara S. Synthesis of some novel 1-(2-naphthyl)-2-(imidazol-1-yl)ethanone oxime ester derivatives and evaluation of their anticonvulsant activity // European journal of medicinal chemistry. — 2012. — Vol. 57. — P. 275-282.

383. Chen C.Y., Wei X.D., Chen C.R. 3,4,5-Trimethoxycinnamic acid, one of the constituents of Polygalae Radix exerts anti-seizure effects by modulating GABAAergic systems in mice // Journal of pharmacological sciences. — 2016. — Vol. 131. — No. 1. — P. 1-5.

384. Cuan Y., He X., Zhao Y., Yang J., Bai Y., Sun Y., Zhang Q., Zhao Z., Wei X., Zheng X. Anticonvulsant Activity of Halogen-Substituted Cinnamic Acid Derivatives and Their Effects on Glycosylation of PTZ-Induced Chronic Epilepsy in Mice // Molecules. — 2018. — Vol. 23. — No. 1. — P. 76.

385. Gunia-Krzyzak A., Pańczyk K., Waszkielewicz A.M., Marona H. Cinnamamide Derivatives for Central and Peripheral Nervous System Disorders--A Review of Structure-Activity Relationships // ChemMedChem. — 2015. — Vol. 10. — No. 8. — P. 1302-1325.

386. Perucca E., French J., Bialer M. Development of new antiepileptic drugs: challenges, incentives, and recent advances // The Lancet. Neurology. — 2007. — Vol. 6. — No. 9. — P. 793-804.

387. Патент РФ № 2643091. Производные оксимов 4-бензоилпиридина, обладающие противосудорожной активностью, как средства лечения эпилепсии и пароксизмальных состояний: опубл. 2018 / С.Б. Середенин, Т.А. Воронина, С.А. Литвинова, Л.Н. Неробкова, И.О. Гайдуков, Т.А. Гудашева, Л.А. Жмуренко, Г.В. Мокров.

388. Жмуренко Л.А., Воронина Т.А., Литвинова С.А., Неробкова Л.Н., Гайдуков И.О., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. Синтез и противосудорожная активность производных оксимов 3- и 4-бензоилпиридинов // Химико-фармацевтический журнал. — 2018. — Т. 52. — No. 1. — С. 19-28.

389. Патент РФ № 2744758. Производные оксима дибензофуранона, обладающие противосудорожной и нейропротективной активностью: опубл. 2021 / Т.А. Воронина, С.А. Литвинова, И.С. Кутепова, Л.Н. Неробкова, Л.А. Жмуренко, Г.В. Мокров, Т.А. Гудашева, А.Д. Дурнев.

390. Жмуренко Л.А., Литвинова С.А., Кутепова И.С., Неробкова Л.Н., Мокров Г.В., Ребеко А.Г., Воронина Т.А., Гудашева Т.А. Синтез, противосудорожная, антигипоксическая и противоишемическая активность производных оксима дибензофуранона // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 11. — С. 9-16.

391. Жмуренко Л.А., Литвинова С.А., Мокров Г.В., Ивашева Д.М., Ребеко А.Г., Воронина Т.А., Гудашева Т.А. Синтез аминоалкильных производных оксима дибензофуранона, обладающих противосудорожной активностью // Химико-фармацевтический журнал. — 2020. — Т. 54. — No. 10. — С. 15-20.

392. Патент РФ № 2773021. Аминоалкильные производные оксима дибензофуранона, обладающие противосудорожной активностью: опубл. 2022 / Т.А. Воронина, Д.М. Ивашова, С.А. Литвинова, Л.А. Жмуренко, Г.В. Мокров, Т.А. Гудашева, А.Д. Дурнев.

393. Kolb K.E., Field K.W., Schatz P.F. A One-Step Synthesis of Cinnamic Acids Using Malonic Acid: The Verley-Doebner Modification of the Knoevenagel Condensation // Journal of Chemical Education. — 1990. — Vol. 67. — No. 12. — P. 304.

394. Кутепова И.С., Литвинова С.А., Воронина Т.А., Неробкова Л.А., Мокров Г.В., Жмуренко Л.А. Противосудорожная активность производных дибензофурана в эксперименте // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2019. — Т. 82. — No. 8. — С. 3-8.

395. Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. // Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ. «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» Часть.1. ФГБУ «НЦЭМСП»., Гриф и К, Москва. — 2012. — С. 235-250.

396. Löscher W., Fassbender C.P., Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. II. Maximal electroshock seizure models // Epilepsy research. — 1991. — Vol. 8. — No. 2. — P. 79-94.

397. Swinyard E.A. Laboratory evaluation of antiepileptic drugs. Review of laboratory methods // Epilepsia. — 1969. — Vol. 10. — No. 2. — P. 107-119.

398. Löscher W., Hönack D., Fassbender C.P., Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylenetetrazole seizure models // Epilepsy research. — 1991. — Vol. 8. — No. 3. — P. 171-189.

399. Belcastro V., Pierguidi L., Tambasco N. Levetiracetam in brain ischemia: clinical implications in neuroprotection and prevention of post-stroke epilepsy // Brain & development. — 2011. — Vol. 33. — No. 4. — P. 289-293.

400. Tröscher A.R., Gruber J., Wagner J.N., Böhm V., Wahl A.S., von Oertzen T.J. Inflammation Mediated Epileptogenesis as Possible Mechanism Underlying Ischemic Post-stroke Epilepsy // Frontiers in aging neuroscience. — 2021. — Vol. 13. — P. 781174.

401. Cho J., Park C., Lee Y., Kim S., Bose S., Choi M., Kumar A.S., Jung J.K., Lee H.

Neuroprotective and antioxidant effects of novel benzofuran-2-carboxamide derivatives // Biomolecules & therapeutics. — 2015. — Vol. 23. — No. 3. — P. 275-282.

402. Khanam H., Shamsuzzaman Bioactive Benzofuran derivatives: A review // European journal of medicinal chemistry. — 2015. — Vol. 97. — No. 1. — P. 483-504.

403. Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л. No Title // Методические указания по изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия» Часть.1. Глава 17. ФГБУ «НЦЭМСП»., Гриф и К, Москва. — 2012. — С. 276-296.

404. Рощина Л.Ф., Островская Р.У. Влияние пирацетама на устойчивость организма к гипоксии // Фармакология и токсикология. — 1981. — Т. 44. — No. 2. — С. 210–212.

405. Мирзоян Р.С., Плотникова М.Б., Ганьшина Т.С. No Title // Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени. Часть.1. Глава 28. ФГБУ «НЦЭМСП»., Гриф и К, Москва. — 2012. — С. 478-485.

406. Rayner G., Jackson G.D., Wilson S.J. Mechanisms of memory impairment in epilepsy depend on age at disease onset // Neurology. — 2016. — Vol. 87. — No. 16. — P. 1642.

407. Жмуренко Л.А., Литвинова С.А., Мокров Г.В., Ковалев И.Г., Воронина Т.А., Неробкова Л.Н., Гудашева Т.А. Синтез, противосудорожная и ноотропная активность производных 4-фенилпирролидона // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 5. — С. 20-27.

408. Патент РФ № 2748419. Производные 4-фенилпирролидона, обладающие противосудорожной и ноотропной активностью, как средства лечения эпилепсии и пароксизмальных состояний: опубл. 2021 / Т.А. Воронина, И.Г. Ковалев, С.А. Литвинова, Л.Н. Неробкова, Л.А. Жмуренко, Г.В. Мокров, Т.А. Гудашева, А.Д. Дурнев.

409. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat // Journal of neuroscience methods. — 1984. — Vol. 11. — No. 1. — P. 47-60.

410. Frick K.M., Fernandez S.M., Bulinski S.C. Estrogen replacement improves spatial reference memory and increases hippocampal synaptophysin in aged female mice // Neuroscience. — 2002. — Vol. 115. — No. 2. — P. 547-558.

411. Calandre E.P., Rico-Villademoros F., Slim M. Alpha2delta ligands, gabapentin, pregabalin and mirogabalin: a review of their clinical pharmacology and therapeutic use // Expert review of neurotherapeutics. — 2016. — Vol. 16. — No. 11. — P. 1263-1277.

412. Manville R.W., Abbott G.W. Gabapentin Is a Potent Activator of KCNQ3 and KCNQ5 Potassium Channels // Molecular pharmacology. — 2018. — Vol. 94. — No. 4. —

P. 1155-1163.

413. Ben-Menachem E. Vigabatrin // Epilepsia. — 1995. — Vol. 36 Suppl 2. — P. S95-S104.

414. Löscher W., Frey H.H., Reiche R., Schultz D. High anticonvulsant potency of gamma-aminobutyric acid (GABA)mimetic drugs in gerbils with genetically determined epilepsy. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 1983. — Vol. 226. — No. 3. — P. 839-844.

415. Mokrov G. V., Litvinova S.A., Voronina T.A., Nerobkova L.N., Kutepova I.S., Kovalev I.G., Gudasheva T.A., Durnev A.D. Design, synthesis, and anticonvulsant evaluation of 4-GABA-3-nitrocoumarines, 1-thiocoumarines, quinolone-2-ones, and their derivatives // Medicinal Chemistry Research. — 2019. — Vol. 28. — No. 11. — P. 1901-1911.

416. Мокров Г.В., Савельев В.Л., Воронина Т.А., Литвинова С.А., Ковалёв И.Г., Неробкова Л.Н., Дмитриенко А.О., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Синтез и противосудорожная активность N-замещенных 4 амино-3-нитрокумарино // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 2. — С. 25-31.

417. Мокров Г.В., Воронина Т.А., Литвинова С.А., Ковалёв И.Г., Неробкова Л.Н., Дурнев А.Д., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Синтез и противосудорожная активность 4-амино-3-нитро-1-тиокумаринов и 4-амино-3-нитрохинолин-2-онов // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 3. — С. 3-9.

418. Proisl K., Kafka S., Kosmrlj J. Chemistry and Applications of 4-Hydroxyquinolin-2-one and Quinoline-2,4-dionebased Compounds // Current Organic Chemistry. — 2017. — Vol. 21. — No. 19. — P. 1949-1975.

419. Bhat M.A., Al-Omar M.A. Coumarin incorporated triazoles: A new class of anticonvulsants // Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research. — 2011. — Vol. 68. — No. 6. — P. 889-895.

420. Jamkhandi P.S., Rajagopal S. Zur Chemie der Antikoagulantien // Monatshefte Für Chemie. — 1963. — Vol. 94. — No. 6. — P. 1271-1273.

421. Патент РФ 2720510. Производные кумарина, тиокумарина и хинолинона, обладающие противосудорожной активностью: опубл. 2020 / Г.В. Мокров, С.А. Литвинова, Л.Н. Неробкова, И.Г. Ковалёв, Т.А. Гудашева, Т.А. Воронина, А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин.

422. Saygı Bacanak M., Aydın B., Cabadak H., Nurten A., Gören M.Z., Enginar N. Contribution of M1 and M2 muscarinic receptor subtypes to convulsions in fasted mice treated with scopolamine and given food // Behavioural Brain Research. — 2019. — Vol. 364. — P. 423-430.

423. Kong Q., Min X., Sun R., Gao J., Liang R., Li L., Chu X. Effects of pharmacological treatments on hippocampal NCAM1 and ERK2 expression in epileptic rats with cognitive dysfunction // Oncology letters. — 2016. — Vol. 12. — No. 3. — P. 1783-1791.

424. Glazova M. V., Nikitina L.S., Hudik K.A., Kirillova O.D., Dorofeeva N.A., Korotkov A.A., Chernigovskaya E. V. Inhibition of ERK1/2 signaling prevents epileptiform behavior in rats prone to audiogenic seizures // Journal of Neurochemistry. — 2015. — Vol. 132. — No. 2. — P. 218-229.

425. Литвинова С.А., Кондрахин Е.А., Воронина Т.А., Васильева Е.В., Ковалев Г.И. Исследование участия рецепторов мозга в механизме противосудорожного действия нового производного оксима 4-бензоилпиридина ГИЖ-298 // Нейрохимия. — 2023. — Т. 40. — No. 1. — С. 59-67.

426. Litvinova S.A., Voronina T.A., Kondrakhin E.A., Gaydukov I.O., Davletshin A.I., Vasileva E. V., Kovalev G.I., Garbuz D.G. ERK1/2 kinases and dopamine D2 receptors participate in the anticonvulsant effects of a new derivative of benzoylpyridine oxime and valproic acid // European Journal of Pharmacology. — 2021. — Vol. 903. — P. 174150.

427. Писклова М.В., Литвинова С.А., Воронина Т.А., Жмуренко Л.А., Гайдуков И.О., Наркевич В.Б., В.С. К. Влияние производного ряда О-(2-R-оксим 4-бензоил) пиридинов ГИЖ-298 и топирамата на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс: нейрохимическое изучение // Нейрохимия. — 2017. — Т. 34. — No. 3. — С. 247-251.

428. Литвинова С.А., Наркевич В.Б., Гайдуков И.О., Кудрин В.С., Воронина Т.А. Изучение влияния производного оксимов пиридина (ГИЖ-298) на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс на фоне судорог, вызванных максимальным электрошоком // Нейрохимия. — 2019. — Т. 36. — No. 3. — С. 239-245.

429. Гайдуков И.О., Литвинова С.А., Воронина Т.А., Гладышева Н.А., Волкова А.В. Влияние нового производного оксима 4-бензоилпиридина - ГИЖ-298 и вальпроевой кислоты на тревожное и депрессивноподобное состояния, когнитивные функции в эксперименте // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2022. — Т. 85. — No. 7. — С. 8-12.

430. Заявка на патент РФ № 2024104203: опубл. 2024 / Е.А. Иванова, Т.А. Воронина, А.Д. Дурнев, А.Г. Васильчук, Г.В. Мокров, В.Е. Бирюкова, С.А. Литвинова, Т.А. Гудашева, В.Л. Дорофеев.

431. Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Волкова А.В., Забродина В.В., Алексеев И.В., Качалов К.С., Захаров А.Д., Алексеева С.В. Исследование острой токсичности ГИЖ-

298 // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2020. — №. 4. — С. 48-54.

432. Сорокина А.В., Алексеева С.В., Мирошкина И.А., Волкова А.В., Качалов К.С., Захаров А.Д., Алексеев И.В., Дурнев А.Д. Изучение острой токсичности ГИЖ-298 на беспородных белых мышах при пероральном введении // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2023. — №. 1. — С. 51-57.

433. Грибакина О.Г., Шевченко Р.В., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Бочков П.О., Бойко С.С., Жердев В.П. Разработка и валидация методики количественного определения соединения ГИЖ-298 в плазме крови крыс с использованием ВЭЖХ-УФ // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2019. — №. 2. — С. 41-45.

434. Бочков П.О., Кравцова О.Ю., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Бойко С.С., Жердев В.П. Количественное определение потенциального противосудорожного средства ГИЖ-298 в плазме крови крыс методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2022. — №. 3. — С. 37-45.

435. Грибакина О.Г., Кравцова О.Ю., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Бочков П.О., Дворянинов Д.А., Бойко С.С., Жердев В.П. Фармакокинетика потенциального противоэпилептического фармакологического вещества ГИЖ-298 у крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2023. — Т. 86. — No. 5. — С. 40-44.

436. Бочков П.О., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Кравцова О.Ю., Шевченко Р.В., Грибакина О.Г., Бойко С.С., Жердев В.П. Метаболизм нового противоэпилептического средства – производного оксима 4-бензоилпиридина // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2022. — Т. 85. — No. 3. — С. 21-24.

437. Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 1. Блокаторы кальциевых каналов // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2021. — No. 4. — С. 3-17.

438. Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 2. Блокаторы HCN-каналов // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2022. — Vol. 0. — No. 2. — С. 3-10.

439. Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 4. Блокаторы и модуляторы калиевых hERG-каналов // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2022. — No. 4. — С. 3-19.

440. Мокров Г.В. Кардиопротекторные средства с биароматической структурой. Часть 3. Блокаторы натриевых каналов // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2022. — No. 3. — С. 3-9.

441. Li X.T. Beneficial effects of carvedilol modulating potassium channels on the control of glucose // Biomedicine & Pharmacotherapy. — 2022. — Vol. 150. — P. 113057.

442. Oknińska M., Paterek A., Zambrowska Z., Mackiewicz U., Mączewski M. Effect of Ivabradine on Cardiac Ventricular Arrhythmias: Friend or Foe? // Journal of Clinical Medicine. — 2021. — Vol. 10. — No. 20. — P. 4732.

443. Lees-Miller J.P., Guo J., Wang Y., Perissinotti L.L., Noskov S.Y., Duff H.J. Ivabradine prolongs phase 3 of cardiac repolarization and blocks the hERG1 (KCNH2) current over a concentration-range overlapping with that required to block HCN4 // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. — 2015. — Vol. 85. — P. 71-78.

444. Hackl B., Lukacs P., Ebner J., Pesti K., Haechl N., Földi M.C., Lilliu E., Schicker K., Kubista H., Stary-Weinzinger A., Hilber K., Mike A., Todt H., Koenig X. The Bradycardic Agent Ivabradine Acts as an Atypical Inhibitor of Voltage-Gated Sodium Channels // Frontiers in Pharmacology. — 2022. — Vol. 13. — P. 798.

445. Nakajima T., Ma J., Iida H., Iwasawa K., Jo T., Omata M., Nagai R. Inhibitory effects of carvedilol on calcium channels in vascular smooth muscle cells // Japanese heart journal. — 2003. — Vol. 44. — No. 6. — P. 963-978.

446. Morgan T. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of carvedilol // Clinical pharmacokinetics. — 1994. — Vol. 26. — No. 5. — P. 335-346.

447. Yoshikawa T., Port J.D., Asano K., Chidiak P., Bouvier M., Dutcher D., Roden R.L., Minobe W., Tremmel K.D., Bristow M.R. Cardiac adrenergic receptor effects of carvedilol // European heart journal. — 1996. — Vol. 17 Suppl B. — No. SUPPL. B. — P. 8-16.

448. Gaiser B.I., Danielsen M., Marcher-Rørsted E., Røpke Jørgensen K., Wróbel T.M., Frykman M., Johansson H., Bräuner-Osborne H., Gloriam D.E., Mathiesen J.M., Sejer Pedersen D. Probing the Existence of a Metastable Binding Site at the β2-Adrenergic Receptor with Homobivalent Bitopic Ligands // Journal of medicinal chemistry. — 2019. — Vol. 62. — No. 17. — P. 7806-7839.

449. Gaillard P., Carrupt P.A., Testa B., Schambel P. Binding of arylpiperazines, (Aryloxy)propanolamines, and tetrahydropyridylindoles to the 5-HT1A receptor: contribution of the molecular lipophilicity potential to three-dimensional quantitative structure-affinity relationship models // Journal of Medicinal Chemistry. — 1996. — Vol. 39. — No. 1. — P. 126-134.

450. Jeong I., Choi B.H., Yoon S.H., Hahn S.J. Carvedilol blocks the cloned cardiac Kv1.5 channels in a β-adrenergic receptor-independent manner // Biochemical pharmacology. — 2012. — Vol. 83. — No. 4. — P. 497-505.

451. Zhang R., Jie L.J., Wu W.Y., Wang Z.Q., Sun H.Y., Xiao G.S., Wang Y., Li Y.G.,

Li G.R. Comparative study of carvedilol and quinidine for inhibiting hKv4.3 channel stably expressed in HEK 293 cells // European journal of pharmacology. — 2019. — Vol. 853. — P. 74-83.

452. Ferrer T., Ponce-Balbuena D., López-Izquierdo A., Aréchiga-Figueroa I.A., De Boer T.P., Van Der Heyden M.A.G., Sánchez-Chapula J.A. Carvedilol inhibits Kir2.3 channels by interference with PIP2-channel interaction // European Journal of Pharmacology. — 2011. — Vol. 668. — No. 1-2. — P. 72-77.

453. Staudacher K., Staudacher I., Ficker E., Seyler C., Gierten J., Kisselbach J., Rahm A.K., Trappe K., Schweizer P.A., Becker R., Katus H.A., Thomas D. Carvedilol targets human K2P3.1 (TASK1) K+ leak channels // British Journal of Pharmacology. — 2011. — Vol. 163. — No. 5. — P. 1099.

454. Cha T., Choi E.K., Yu G.-I., Kim B.J., Park D.H. Differential Effects of Carvedilol and Atenolol on Acetylcholine-Activated K+ Current ; Possible Atrial-Specific Antiarrhythmic Effects of Carvedilol on Atrial Fibrillation | Circulation // Circulation. — 2016. — Vol. 134. — No. 11 (suppl 1). — P. 18272.

455. Murnane K.S., Guner O.F., Bowen J.P., Rambacher K.M., Moniri N.H., Murphy T.J., Daphney C.M., Oppong-Damoah A., Rice K.C. The adrenergic receptor antagonist carvedilol interacts with serotonin 2A receptors both in vitro and in vivo // Pharmacology, biochemistry, and behavior. — 2019. — Vol. 181. — P. 37-45.

456. Pauwels P.J., Gommeren W., Van Lommen G., Janssen P.A.J., Leysen J.E. The receptor binding profile of the new antihypertensive agent nebivolol and its stereoisomers compared with various β-adrenergic blockers // Molecular Pharmacology. — 1988. — Vol. 34. — No. 6.

457. Vela J.M. Repurposing Sigma-1 Receptor Ligands for COVID-19 Therapy? // Frontiers in Pharmacology. — 2020. — Vol. 11. — P. 1716.

458. de Sousa C.N.S., Medeiros I. da S., Vasconcelos G.S., de Aquino G.A., Cysne Filho F.M.S., de Almeida Cysne J.C., Macêdo D.S., Vasconcelos S.M.M. Involvement of oxidative pathways and BDNF in the antidepressant effect of carvedilol in a depression model induced by chronic unpredictable stress // Psychopharmacology. — 2022. — Vol. 239. — No. 1. — P. 297-311.

459. Cheng J., Niwa R., Kamiya K., Toyama J., Kodama I. Carvedilol blocks the repolarizing K+ currents and the L-type Ca2+ current in rabbit ventricular myocytes // European journal of pharmacology. — 1999. — Vol. 376. — No. 1-2. — P. 189-201.

460. Deng C., Rao F., Wu S., Kuang S., Liu X., Zhou Z., Shan Z., Lin Q., Qian W., Yang M., Geng Q., Zhang Y., Yu X., Lin S. Pharmacological effects of carvedilol on T-type calcium

current in murine HL-1 cells // European journal of pharmacology. — 2009. — Vol. 621. — No. 1-3. — P. 19-25.

461. Bankston J.R., Kass R.S. Molecular determinants of local anesthetic action of beta-blocking drugs: Implications for therapeutic management of long QT syndrome variant 3 // Journal of molecular and cellular cardiology. — 2010. — Vol. 48. — No. 1. — P. 246-253.

462. Yang J.F., Cheng N., Ren S., Liu X.M., Li X.T. Characterization and molecular basis for the block of Kv1.3 channels induced by carvedilol in HEK293 cells // European journal of pharmacology. — 2018. — Vol. 834. — P. 206-212.

463. Cao Y., Chen S., Liang Y., Wu T., Pang J., Liu S., Zhou P. Inhibition of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels by β-blocker carvedilol // British journal of pharmacology. — 2018. — Vol. 175. — No. 20. — P. 3963-3975.

464. Lysko P.G., Lysko K.A., Webb C.L., Feuerstein G. Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive, at the N-methyl-D-aspartate receptor // Neuroscience letters. — 1992. — Vol. 148. — No. 1-2. — P. 34-38.

465. Oliveira P.J., Santos D.J., Moreno A.J.M. Carvedilol inhibits the exogenous NADH dehydrogenase in rat heart mitochondria // Archives of biochemistry and biophysics. — 2000. — Vol. 374. — No. 2. — P. 279-285.

466. Smith C.D., Wang A., Vembaiyan K., Zhang J., Xie C., Zhou Q., Wu G., Chen S.R.W., Back T.G. Novel Carvedilol Analogues That Suppress Store-Overload-Induced Ca2+ Release // Journal of Medicinal Chemistry. — 2013. — Vol. 56. — No. 21. — P. 8626-8655.

467. Jiang J., Tian L., Huang Y., Li Y., Xu L. Pharmacokinetic and safety profile of ivabradine in healthy Chinese men: a phase I, randomized, open-label, increasing single- and multiple-dose study // Clinical therapeutics. — 2013. — Vol. 35. — No. 12. — P. 1933-1945.

468. Accessdata.fda.gov CLINICAL PHARMACOLOGY AND BIOPHARMACEUTICS REVIEW(S). Corlanor. — URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/206143Orig1s000ClinPharmR.pdf (дата обращения: 30.12.2022).

469. Ema.europa.eu Procoralan. — URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/procoralan-epar-scientific-discussion_en.pdf (дата обращения: 30.12.2022).

470. Melgari D., Brack K.E., Zhang C., Zhang Y., Harchi A. El, Mitcheson J.S., Dempsey C.E., André Ng G., Hancox J.C. hERG potassium channel blockade by the HCN channel inhibitor bradycardic agent ivabradine // Journal of the American Heart Association. —

2015. — Vol. 4. — No. 4. — P. e001813.

471. Accessdata.fda.gov PHARMACOLOGY REVIEW. Ivabradine. — URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/206143Orig1s000PharmR.pdf (дата обращения: 30.12.2022).

472. Delpón E., Valenzuela C., Pérez O., Franqueza L., Gay P., Snyders D.J., Tamargo J. Mechanisms of block of a human cloned potassium channel by the enantiomers of a new bradycardic agent: S-16257-2 and S-16260-2 // British journal of pharmacology. — 1996. — Vol. 117. — No. 6. — P. 1293-1301.

473. Briciu C., Neag M., Muntean D., Bocsan C., Buzoianu A., Antonescu O., Gheldiu A.M., Achim M., Popa A., Vlase L. Phenotypic differences in nebivolol metabolism and bioavailability in healthy volunteers // Clujul Medical. — 2015. — Vol. 88. — No. 2. — P. 208.

474. Briciu C., Neag M., Muntean D., Vlase L., Bocsan C., Buzoianu A., Gheldiu A.M., Achim M., Popa A. A pharmacokinetic drug interaction study between nebivolol and paroxetine in healthy volunteers // Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics. — 2014. — Vol. 39. — No. 5. — P. 535.

475. Chen C.L., Desai-Krieger D., Ortiz S., Kerolous M., Wright H.M., Ghahramani P. A Single-Center, Open-Label, 3-Way Crossover Trial to Determine the Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Interaction between Nebivolol and Valsartan in Healthy Volunteers at Steady State // American Journal of Therapeutics. — 2015. — Vol. 22. — No. 5. — P. e130.

476. Ignarro L.J. Different pharmacological properties of two enantiomers in a unique β-blocker, nebivolol // Cardiovascular Therapeutics. — 2008. — Vol. 26. — No. 2. — P. 115.

477. Frazier E.P., Michel-Reher M.B., Van Loenen P., Sand C., Schneider T., Peters S.L.M., Michel M.C. Lack of evidence that nebivolol is a β 3-adrenoceptor agonist // European Journal of Pharmacology. — 2011. — Vol. 654. — No. 1. — P. 86.

478. Rozec B., Thuy T.Q., Noireaud J., Gauthier C. Mixed β 3-adrenoceptor agonist and α 1- adrenoceptor antagonist properties of nebivolol in rat thoracic aorta // British Journal of Pharmacology. — 2006. — Vol. 147. — No. 7. — P. 699.

479. Tan Z., Xiao Z., Wei J., Zhang J., Zhou Q., Smith C.D., Nani A., Wu G., Song L.S., Back T.G., Fill M., Chen S.R.W. Nebivolol suppresses cardiac ryanodine receptor-mediated spontaneous Ca2+ release and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia // Biochemical Journal. — 2016. — Vol. 473. — No. 22. — P. 4159.

480. Mirams G.R., Davies M.R., Brough S.J., Bridgland-Taylor M.H., Cui Y., Gavaghan D.J., Abi-Gerges N. Prediction of Thorough QT study results using action potential simulations based on ion channel screens // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. —

2014. — Vol. 70. — No. 3. — P. 246.

481. Gintant G. An evaluation of hERG current assay performance: Translating preclinical safety studies to clinical QT prolongation. Vol. 129. — 2011.

482. Rayner-Hartley E., Sedlak T. Ranolazine: A contemporary review. Vol. 5. — 2015.

483. Mezincescu A., Karthikeyan V.J., Nadar S.K. Ranolazine: A true pluripotent cardiovascular drug or jack of all trades, master of none? Vol. 18. — 2018.

484. Antzelevitch C., Belardinelli L., Zygmunt A.C., Burashnikov A., Di Diego J.M., Fish J.M., Cordeiro J.M., Thomas G. Electrophysiological effects of ranolazine, a novel antianginal agent with antiarrhythmic properties // Circulation. — 2004. — Vol. 110. — No. 8. — P. 904.

485. Kim H.J., Ahn H.S., Choi J.S., Choi B.H., Hahn S.J. Effects of ranolazine on cloned cardiac Kv4.3 potassium channels // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2011. — Vol. 339. — No. 3. — P. 952.

486. Chen B.S., Lo Y.C., Peng H., Hsu T.I., Wu S.N. Effects of ranolazine, a novel anti-anginal drug, on ion currents and membrane potential in pituitary tumor GH3 cells and NG108-15 neuronal cells // Journal of Pharmacological Sciences. — 2009. — Vol. 110. — No. 3. — P. 295.

487. Zhao G., Walsh E., Shryock J.C., Messina E., Wu Y., Zeng D., Xu X., Ochoa M., Baker S.P., Hintze T.H., Belardinelli L. Antiadrenergic and hemodynamic effects of ranolazine in conscious dogs // Journal of Cardiovascular Pharmacology. — 2011. — Vol. 57. — No. 6. — P. 639.

488. US Patent 8586732 B2: опубл. 29.06.2012 / B.K. Corkey, E. Elzein, R.H. Jiang, R. V. Kalla, D. Koltun, X. Li, R. Martinez, E.Q. Parkhill, T. Perry, J. Zablocki, C. Venkataramani, M. Graupe, J. Guerrero.

489. Kahlig K.M., Lepist I., Leung K., Rajamani S., George A.L. Ranolazine selectively blocks persistent current evoked by epilepsy-associated Na V1.1 mutations // British Journal of Pharmacology. — 2010. — Vol. 161. — No. 6. — P. 1414.

490. Peters C.H., Sokolov S., Rajamani S., Ruben P.C. Effects of the antianginal drug, ranolazine, on the brain sodium channel NaV1.2 and its modulation by extracellular protons // British Journal of Pharmacology. — 2013. — Vol. 169. — No. 3. — P. 704.

491. Ging K.W., Calderon J., Wang S.Y. State- and use-dependent block of muscle Nav1.4 and neuronal Nav1.7 voltage-gated Na+ channel isoforms by ranolazine // Molecular Pharmacology. — 2008. — Vol. 73. — No. 3. — P. 940.

492. Rajamani S., Shryock J.C., Belardinelli L. Block of tetrodotoxin-sensitive, NaV1.7 and tetrodotoxin- resistant, NaV1.8, Na+ channels by ranolazine // Channels. — 2008. —

Vol. 2. — No. 6. — P. 449.

493. Parikh A., Mantravadi R., Kozhevnikov D., Roche M.A., Ye Y., Owen L.J., Puglisi J.L., Abramson J.J., Salama G. Ranolazine stabilizes cardiac ryanodine receptors: A novel mechanism for the suppression of early afterdepolarization and torsades de pointes in long QT type 2 // Heart Rhythm. — 2012. — Vol. 9. — No. 6. — P. 953.

494. Virsolvy A., Farah C., Pertuit N., Kong L., Lacampagne A., Reboul C., Aimond F., Richard S. Antagonism of Nav channels and α1-adrenergic receptors contributes to vascular smooth muscle effects of ranolazine // Scientific Reports. — 2015. — Vol. 5. — P. 17969.

495. Accessdata.fda.gov "Pharmacology Review(s). Ranexa." — URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/021526_s000_Ranexa_Pharmr.pdf (дата обращения: 10.01.2023).

496. Wiśniowska B., Mendyk A., Fijorek K., Glinka A., Polak S. Predictive model for L-type channel inhibition: multichannel block in QT prolongation risk assessment // Journal of Applied Toxicology. — 2012. — Vol. 32. — No. 10. — P. 858-866.

497. Keserü G.M. Prediction of hERG potassium channel affinity by traditional and hologram QSAR methods // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. — 2003. — Vol. 13. — No. 16. — P. 2773-2775.

498. Sawicki W. Pharmacokinetics of verapamil and norverapamil from controlled release floating pellets in humans // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. — 2002. — Vol. 53. — No. 1. — P. 29.

499. Hamann S.R., Blouin R.A., McAllister R.G. Clinical Pharmacokinetics of Verapamil. Vol. 9. — 1984.

500. Hla K., Henry J., Latham A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of two formulations of verapamil. // British Journal of Clinical Pharmacology. — 1987. — Vol. 24. — No. 5. — P. 661.

501. Keefe D.L., Yee Y. -G, Kates R.E. Verapamil protein binding in patients and in normal subjects // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 1981. — Vol. 29. — No. 1. — P. 21-.

502. Johannesen L., Vicente J., Mason J.W., Sanabria C., Waite-Labott K., Hong M., Guo P., Lin J., Sørensen J.S., Galeotti L., Florian J., Ugander M., Stockbridge N., Strauss D.G. Differentiating drug-induced multichannel block on the electrocardiogram: Randomized study of dofetilide, quinidine, ranolazine, and verapamil // Clinical Pharmacology and Therapeutics. — 2014. — Vol. 96. — No. 5. — P. 549.

503. Almansa C., Vela J.M. Selective sigma-1 receptor antagonists for the treatment of pain. Vol. 6. — 2014.

504. Dhainaut A., Regnier G., Tizot A., Pierre A., Leonce S., Guilbaud N., Kraus-Berthier L., Atassi G. New purines and purine analogs as modulators of multidrug resistance // Journal of Medicinal Chemistry. — 1996. — Vol. 39. — No. 20. — P. 4099.

505. Motulsky H.J., Snavely M.D., Hughes R.J., Insel P.A. Interaction of verapamil and other calcium channel blockers with α1- and α2-adrenergic receptors // Circulation Research. — 1983. — Vol. 52. — No. 2. — P. 226.

506. Taylor J.E., Defeudis F. V. Inhibition of [3H]spiperone binding to 5-HT2 receptors of rat cerebral cortex by the calcium antagonists verapamil and D600 // European Journal of Pharmacology. — 1984. — Vol. 106. — No. 1. — P. 215.

507. DrugMatrix/ToxFX. — URL: https://ntp.niehs.nih.gov/data/drugmatrix/ (дата обращения: 19.05.2023).

508. Glusa E., Bevan J., Heptinstall S. Verapamil is a potent inhibitor of 5-HT-induced platelet aggregation // Thrombosis Research. — 1989. — Vol. 55. — No. 2. — P. 239.

509. Shibata K., Hirasawa A., Foglar R., Ogawa S., Tsujimoto G. Effects of quinidine and verapamil on human cardiovascular α1- adrenoceptors // Circulation. — 1998. — Vol. 97. — No. 13. — P. 1227.

510. Freeze B.S., McNulty M.M., Hanck D.A. State-dependent verapamil block of the cloned human Cav3.1 T-type Ca2+ channel // Molecular Pharmacology. — 2006. — Vol. 70. — No. 2. — P. 718-726.

511. Perez-Reyes E., Van Deusen A.L., Vitko I. Molecular pharmacology of human Cav3.2 T-type Ca2+ channels: Block by antihypertensives, antiarrhythmics, and their analogs // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 2009. — Vol. 328. — No. 2. — P. 621.

512. Kuryshev Y.A., Brown A.M., Duzic E., Kirsch G.E. Evaluating state dependence and subtype selectivity of calcium channel modulators in automated electrophysiology assays // Assay and Drug Development Technologies. — 2014. — Vol. 12. — No. 2. — P. 110.

513. Dobrev D., Milde A.S., Andreas K., Ravens U. The effects of verapamil and diltiazem on N-, P- and Q-type calcium channels mediating dopamine release in rat striatum // British Journal of Pharmacology. — 1999. — Vol. 127. — No. 2. — P. 576.

514. Waldegger S., Niemeyer G., Mörike K., Wagner C.A., Suessbrich H., Busch A.E., Lang F., Eichelbaum M. Effect of verapamil enantiomers and metabolites on cardiac K + channels expressed in Xenopus oocytes // Cellular Physiology and Biochemistry. — 1999. — Vol. 9. — No. 2. — P. 81.

515. Madeja M., Müller V., Mußhoff U., Speckmann E.J. Sensitivity of native and cloned hippocampal delayed-rectifier potassium channels to verapamil // Neuropharmacology. —

2000. — Vol. 39. — No. 2. — P. 202.

516. Diesch A.K., Grissmer S. Kinetic Aspects of Verapamil Binding (On-Rate) on Wild-Type and Six h K v 1.3 Mutant Channels // Cellular Physiology and Biochemistry. — 2017. — Vol. 44. — No. 1. — P. 172.

517. Ninomiya T., Takano M., Haruna T., Kono Y., Horie M. Verapamil, a Ca2+ entry blocker, targets the pore-forming subunit of cardiac type KATP channel (Kir6.2) // Journal of Cardiovascular Pharmacology. — 2003. — Vol. 42. — No. 2. — P. 161.

518. Wu M., Tran P.N., Sheng J., Randolph A.L., Wu W.W. Drug potency on inhibiting late Na+ current is sensitive to gating modifier and current region where drug effects were measured // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. — 2019. — Vol. 100. — P. 106605.

519. Tamura A., Ogura T., Uemura H., Reien Y., Kishimoto T., Nagai T., Komuro I., Miyazaki M., Nakaya H. Effects of antiarrhythmic drugs on the hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel current // Journal of Pharmacological Sciences. — 2009. — Vol. 110. — No. 2. — P. 150.

520. Karliner J.S., Motulsky H.J., Dunlap J., Brown J.H., Insel P.A. Verapamil competitively inhibits α1-adrenergic and muscarinic but not β-adrenergic receptors in rat myocardium // Journal of Cardiovascular Pharmacology. — 1982. — Vol. 4. — No. 3. — P. 515.

521. Katayama S., Kito S., Miyoshi R., Matsubayashi H. Effects of calcium antagonists on muscarinic receptor subtypes in the rat brain // Brain Research. — 1987. — Vol. 422. — No. 1. — P. 168.

522. Sitges M., Reyes A. Effects of verapamil on the release of different neurotransmitters // Journal of Neuroscience Research. — 1995. — Vol. 40. — No. 5. — P. 613.

523. Патент РФ № 2624438. Бис(метоксибензиламиноалкил)амины, обладающие кардиотропной активностью: опубл. 2017 / С.Б. Середенин, Г.В. Мокров, С.А. Крыжановский, А.М. Лихошерстов, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, Т.А. Гудашева, А.В. Сорокина, А.Д. Дурнев, В.П. Жердев, К.В. Алексеев.

524. Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Синтез и кардиотропная активность линейных метоксифенилтриазаалканов // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 6. — С. 16-23.

525. Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ребеко А.Г., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А. Синтез и кардиотропная

активность циклических метоксифенилтриазаалканов // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 7. — С. 7-12.

526. Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ребеко А.Г., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А. Синтез и кардиотропная активность 1-(метоксибензил)-4-[2-((метоксибензил)-амино)этил]пиперазинов // Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — No. 9. — С. 9-14.

527. Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А. Исследование влияния положения метокси-группы на кардиотропную активность соединения АЛМ-802 // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2019. — №. 1. — С. 6-11.

528. Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А. Исследование кардиотропной активности орто-алкокси аналогов соединения АЛМ-802 // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2019. — №. 4. — С. 18-23.

529. Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Пантилеев А.С., Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А. Изучение влияния строения ароматических групп алкоксифенилтриазаалканов на их кардиотропную активность // Химико-фармацевтический журнал. — 2020. — Т. 54. — No. 4. — С. 3-9.

530. Патент РФ № 2791576. Бис(алкоксибензил)алкандиамины, обладающие кардиотропной активностью: опубл. 2023 / С.Б. Середенин, В.В. Барчуков, Е.И. Барчукова, Г.В. Мокров, С.А. Крыжановский, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, Т.А. Гудашева, А.Д. Дурнев.

531. Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Барчукова Е.И., Барчуков В.В., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ребеко А.Г., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А. Синтез и кардиотропная активность бис-(2,3,4-триметоксибензил)алкандиаминов // Химико-фармацевтический журнал. — 2021. — Т. 55. — No. 4. — С 19-24.

532. Мокров Г.В., Воробьева Т.Ю., Бирюкова В.Е., Барчукова Е.И., Барчуков В.В., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ребеко А.Г., Крыжановский С.А. Синтез и кардиотропная активность N,N` диарилпропан-1,3-диаминов // Химико-фармацевтический журнал. — 2023. — Т. 57. — No. 7. — С. 7-12.

533. Патент РФ № 2751878. 1-(Метоксибензил)-4-[2-((метоксибензил)амино)этил]пиперазины, обладающие антиаритмической активностью: опубл. 2021 / С.Б. Середенин, В.В. Барчуков, Г.В. Мокров, С.А. Крыжановский, А.М. Лихошерстов, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, Т.А. Гудашева, А.Д. Дурнев.

534. Мокров Г.В., Воробьева Т.Ю., Бирюкова В.Е., Барчукова Е.И., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ребеко А.Г., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А. Изучение влияния строения центрального атома бис (2,3,4-триметоксифенил)азаалканов на их кардиотропную активность // Химико-фармацевтический журнал. — 2023. — Т. 57. — No. 9. — С. 3-9.

535. Мокров Г.В., Воробьева Т.Ю., Бирюкова В.Е., Пантилеев А.С., Барчукова Е.И., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ребеко А.Г., Крыжановский С.А., Гудашева Т.А., Дорофеев В.Л. Дизайн, синтез и изучение кардиотропных свойств N1-бензил-N2-(2-((2,3,4-триметоксибензил)амино)этил)этан-1,2-диаминов // Химико-фармацевтический журнал. — 2024. — Т. 58. — No. 5. — С. 3-13.

536. Мокров Г.В., Бобровский С.И., Барчуков В.В., Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ребеко А.Г., Гудашева Т.А. Синтез органических солей N1-(2,3,4-триметоксибензил)-N2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина и их кардиотропная активность // Химико-фармацевтический журнал. — 2022. — Т. 56. — No. 8. — С. 25-29.

537. Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Воробьева Т.Ю., Бирюкова В.Е., Мокров Г.В. Исследование антиаритмической активности линейных алкоксифенилазаалканов на модели реперфузионных аритмий у крыс // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2023. — №. 2. — С. 20-28.

538. Толстикова Т.Г., Брызгалов А.О., Сорокина И.В., Долгих М.П., Шульц Э.Э., Осадчий С.А., Толстиков Г.А. Солеобразование с бромистоводородной кислотой как фактор, определяющий антиаритмическое действие производных лаппаконитина // Доклады Академии наук. — 2007. — Т. 415. — No. 6. — С. 837-838.

539. Цорин И.Б., Теплов И.Ю., Зинченко В.П., Барчуков В.В., Вититнова М.Б., Мокров Г.В., Крыжановский С.А. Механизмы антиаритмического действия соединения АЛМ-802 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2022. — Т. 174. — No. 8. — С. 179-183.

540. Крыжановский С.А., Зинченко В.П., Цорин И.Б., Теплов И.Ю., Вититнова М.Б., Мокров Г.В., Столярук В.Н. К механизму антиаритмического действия соединения АЛМ-802: роль рианодиновых рецепторов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2022. — Т. 174. — No. 12. — С. 705-709.

541. Кожевникова Л.М., Барчуков В.В., Семенова Н.П., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия соединения АЛМ-802 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2020. — Т. 179. — No. 9. — С. 301-305.

542. Барчуков В.В., Цорин И.Б., Лихошерстов А.М., Вититнова М.Б., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Крыжановский С.А. Противоишемическая активность триамина АЛМ-802 в условиях эндотелиальной дисфункции // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2019. — Т. 167. — No. 4. — С. 443-446.

543. Барчуков В.В., Цорин И.Б., Лихошерстов А.М., Вититнова М.Б., Мокров Г.В., Крыжановский С.А. Сравнительное изучение антиишемической активности триметазидина и соединения АЛМ-802 в условиях эндотелиальной дисфункции // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2019. — №. 2. — С. 23-27.

544. Цорин И.Б., Барчуков В.В., Вититнова М.Б., Лихошерстов А.М., Мокров Г.В., Крыжановский С.А. Кардиопротекторные эффекты соединения АЛМ-802 на моделях субэндокардиальной ишемии // Фармакокинетика и фармакодинамика. — 2021. — №. 1. — С. 18-22.

545. Барчуков В.В., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Ефимова А.О., Лихошерстов А.М., Мокров Г.В., Крыжановский С.А. Выбор тактики экспериментальной терапии хронической сердечной недостаточности соединением АЛМ-802 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2020. — Т. 170. — No. 12. — С. 752-758.

546. Патент РФ № 2784542. Вещество, восстанавливающее физическую работоспособность после острого утомления: опубл. 2022 / С.А. Крыжановский, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, В.В. Барчуков, Г.В. Мокров, А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин.

547. Колик Л.Г., Надорова А.В., Цорин И.Б., Барчуков В.В., Мокров Г.В., Лихошерстов А.М., Гудашева Т.А., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. Экспериментальная оценка анксиолитических и анальгетических свойств нового производного линейных метоксифенилтриазаалканов с кардиотропной активностью // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2020. — Т. 170. — No. 12. — С. 764-767.

548. Патент РФ № 2773018. Кардиотропное средство с анксиолитическими и анальгетическими свойствами: опубл. 2022 / Л.Г. Колик, А.В. Надорова, И.Б. Цорин, В.В. Барчуков, Г.В. Мокров, А.М. Лихошерстов, Т.А. Гудашева, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев.

549. Колыванов Г.Б., Бочков П.О., Литвин А.А., Шевченко Р.В., Подолько А.Л., Жердев В.П. Абсолютная биодоступность соединения, обладающего кардиопротективной активностью (АЛМ-802), у крыс // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2021. — №. 2. — С. 31-35.

550. Кравцова О.Ю., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Бочков П.О., Жердев В.П. Кинетика распределения кардиопротектора АЛМ-802 в органах и тканях крыс // Фармакокинетика и Фармакодинамика. — 2022. — №. 2. — С. 17-22.

551. Кравцова О.Ю., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Грибакина О.Г., Бочков П.О., Мокров Г.В., Жердев В.П. Метаболизм нового кардиопротекторного средства из ряда линейных алкоксифенилазаалканов (АЛМ-802) // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2023. — Т. 86. — No. 6. — С. 36-40.

552. Грушевская Л.Н., Аджиенко В.В., Сергеева М.С., Гаевая Л.М., Дуденкова М.Е., Денисенко Е.Д., Авдюнина Н.И., Минаев С.В., Мокров Г.В. Разработка методики определения родственных примесей в субстанции нового соединения с антиаритмической активностью АЛМ-802 // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2019. — Т. 72. — No. 4. — С. 77-80.

553. White J., McGillivray G. The Vilsmeier-Haack Aroylation of Pyrroles Reexamined // Journal of Organic Chemistry. — 1977. — Vol. 42. — No. 26. — P. 4248-4251.

554. Milen M., Ábrányi-Balogh P., Dancsó A., Simig G., Volk B. Synthesis of a new compound family, 1-aryl-3H-pyrrolo[2,1-d][1,2,5]triazepin-4(5H)-ones // Tetrahedron. — 2014. — Vol. 70. — No. 2. — P. 465-476.

555. Peng Y., Luo J., Feng Q., Tang Q. Understanding the Scope of Feist–Bénary Furan Synthesis: Chemoselectivity and Diastereoselectivity of the Reaction Between α-Halo Ketones and β-Dicarbonyl Compounds // European Journal of Organic Chemistry. — 2016. — Vol. 30. — P. 5169-5179.

556. Coutrot P., Snoussi M., Savignac P. An Improvement in the Wittig-Horner Synthesis of 2-Alkenoic Acids // Synthesis. — 1978. — Vol. 1978. — No. 2. — P. 133-134.

557. Jiménez V., Alderete J.B. The role of charge transfer interactions in the inclusion complexation of anionic guests with α-cyclodextrin // Tetrahedron. — 2005. — Vol. 61. — No. 23. — P. 5449-5456.

558. Zhang Y.M., Zhou Z.M., Jiang F. Synthesis of new phenols 1. derivatives of 8 hydroxy indolizine // Journal of Chemical Research Synopses. — 1981. — No. 2. — P. 366-367.

559. Sharma M.L., Kaur S. Synthesis of quaternary salts of ammonia from cinnamic acids and their plant growth retardant activity // Journal of the Indian Chemical Society. — 2007. — Vol. 84. — No. 6. — P. 612-614.

560. Takaya J., Tadami S., Ukai K., Iwasawa N. Copper(I)-catalyzed carboxylation of aryl- and alkenylboronic esters // Organic Letters. — 2008. — Vol. 10. — No. 13. — P. 2697-2700.

561. Leitis Z., Lūsis V. Conjugate addition of aryl nucleophiles to α,β-unsaturated cinnamic acid derivatives containing Evans type chiral auxiliaries // Tetrahedron: Asymmetry. — 2016. — Vol. 27. — No. 17-18. — P. 843-851.

562. Chen Y., Luo X., Wang Y., Xing Z., Chen J. Design and synthesis novel amide derivatives containing an 1,3,4-oxadiazole moiety as potential antibacterial agents // Journal of Heterocyclic Chemistry. — 2022. — Vol. 59. — No. 7. — P. 1160-1168.

563. Raffa D., Maggio B., Raimondi M.V., Cusimano M.G., Amico G., Carollo A., Conaldi P.G., Bai R., Hamel E., Daidone G. 2-cinnamamido, 2-(3-phenylpropiolamido), and 2-(3-phenylpropanamido)benzamides: synthesis, antiproliferative activity, and mechanism of action // European journal of medicinal chemistry. — 2013. — Vol. 65. — P. 427-435.

564. Mikroyannidis J.A., Spiliopoulos I.K., Kasimis T.S., Kulkarni A.P., Jenekhe S.A. Synthesis, Photophysics, and Electroluminescence of Conjugated Poly(p-phenylenevinylene) Derivatives with 1,3,4-Oxadiazoles in the Backbone // Macromolecules. — 2003. — Vol. 36. — No. 25. — P. 9295-9302.

565. Novacek L., Novakova O., Polasek L., Danek J. [Preparation of derivatives of 3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanic acid and a study of its biological activity] // Ceskoslovenska farmacie. — 1990. — Vol. 39. — No. 3. — P. 109-112.

566. Kim T.H., Huh C., Lee B.S., Lee I. Nucleophilic substitution reactions of cinnamoyl chlorides with anilines in acetonitrile and acetonitrile–methanol mixtures // Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2. — 1995. — No. 12. — P. 2257-2261.

567. Norman M.H., Heathcock C.H. Novel Transformations Leading to 3-Benzylindolizidin-2-ones // Journal of Organic Chemistry. — 1987. — Vol. 52. — No. 2. — P. 226-235.

568. WO Patent 2008074755A2.: опубл. 2007 / A. Nardi, M. Grunnet, J. Demnitz, T.D. Jensen, P. Christophersen, D.S. Jones, E.O. Nielsen, D. Strøbæk, L.S. Madsen.

569. Gakhar H.K., Kaur R., Gupta S.B. [1,3]Dioxolo[5,6][1]benzothieno[2,3-c]-quinolin-6(5H)-ones // Monatshefte für Chemie. — 1995. — Vol. 126. — No. 11. — P. 1253-1256.

570. Rasschaert A. No Title // Bull. Soc. Chim. Belg. — 1966. — Vol. 75. — No. 7-8. — P. 449-455.

571. Robinson E.R.T., Frost A.B., Elías-Rodríguez P., Smith A.D. Enantioselective Isothiourea-Catalysed Michael–Michael–Lactonisation- Cascade Reaction for the Synthesis of δ-Lactones and 1,2,3,4-Substituted Cyclopentanes // Synthesis. — 2017. — Vol. 49. — No. 02. — P. 409-423.

572. Wu Z., Minhas G.S., Wen D., Jiang H., Chen K., Zimniak P., Zheng J. Design, synthesis, and structure-activity relationships of haloenol lactones: Site-directed and isozyme-

selective glutathione S-transferase inhibitors // Journal of Medicinal Chemistry. — 2004. — Vol. 47. — No. 12. — P. 3282-3294.

573. Глозман О.М., Морозов И.С., Жмуренко Л.А., Загоревский В.А. Синтез и антиспазматическая активность 4-фенилпирролидон-2-ацетамидов // Химико-фармацевтический журнал. — 1980. — Т. 14. — No. 11. — С. 43-48.

574. Matsuo K., Shindo M. Efficient synthesis of dissymmetric malonic acid S, O -esters via monoalcoholysis of symmetric dithiomalonates under neutral conditions // Organic Letters. — 2011. — Vol. 13. — No. 16. — P. 4406-4409.

575. Савельев В.Л., Афанасьева Т.Г., Загоревский В.А. Синтез 3-нитро-4-амино- и 3,4-диаминотиокумаринов // Химия гетероциклических соединений. — 1987. — Т. 1. — No. 1. — С. 43-47.

576. Shobana N., Yeshoda P., Shanmugam P. A convenient approach to the synthesis of prenyl-, furo- and pyrano-quinoline alkaloids of the rutaceae // Tetrahedron. — 1989. — Vol. 45. — No. 3. — P. 757-762.

577. Dollé V., Fan E., Nguyen C.H., Aubertin A.M., Kirn A., Andreola M.L., Jamieson G., Tarrago-Litvak L., Bisagni E. A new series of pyridinone derivatives as potent non-nucleoside human immunodeficiency virus type 1 specific reverse transcriptase inhibitors // Journal of medicinal chemistry. — 1995. — Vol. 38. — No. 23. — P. 4679-4686.

578. Giannozzi P., Baroni S., Bonini N., Calandra M., Car R., Cavazzoni C., Ceresoli D., Chiarotti G.L., Cococcioni M., Dabo I., Dal Corso A., De Gironcoli S., Fabris S., Fratesi G., Gebauer R., Gerstmann U., Gougoussis C., Kokalj A., Lazzeri M., Martin-Samos L., Marzari N., Mauri F., Mazzarello R., Paolini S., Pasquarello A., Paulatto L., Sbraccia C., Scandolo S., Sclauzero G., Seitsonen A.P., Smogunov A., Umari P., Wentzcovitch R.M. QUANTUM ESPRESSO: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials // Journal of physics. Condensed matter : an Institute of Physics journal. — 2009. — Vol. 21. — No. 39.

579. Perdew J.P., Burke K., Ernzerhof M. Generalized Gradient Approximation Made Simple // Physical review letters. — 1996. — Vol. 77. — No. 18. — P. 3865-3868.

580. Grimme S. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction // Journal of computational chemistry. — 2006. — Vol. 27. — No. 15. — P. 1787-1799.

581. Vanderbilt D. Soft self-consistent pseudopotentials in a generalized eigenvalue formalism // Physical review. B, Condensed matter. — 1990. — Vol. 41. — No. 11. — P. 7892-7895.

582. Coelho A.A. Indexing of powder diffraction patterns by iterative use of singular

value decomposition // Journal of Applied Crystallography. — 2003. — Vol. 36. — No. 1. — P. 86-95.

583. Favre-Nicolin V., Černý R. FOX, `free objects for crystallography': a modular approach to ab initio structure determination from powder diffraction // urn:issn:0021-8898. — 2002. — Vol. 35. — No. 6. — P. 734-743.

584. Bruno I.J., Cole J.C., Kessler M., Luo J., Momerwell W.D.S., Purkis L.H., Smith B.R., Taylor R., Cooper R.I., Harris S.E., Orpen A.G. Retrieval of crystallographically-derived molecular geometry information // Journal of chemical information and computer sciences. — 2004. — Vol. 44. — No. 6. — P. 2133-2144.

585. Dollase W.A. Correction of intensities for preferred orientation in powder diffractometry: application of the March model // urn:issn:0021-8898. — 1986. — Vol. 19. — No. 4. — P. 267-272.

586. Dmitrienko A.O., Bushmarinov I.S. Reliable structural data from Rietveld refinements via restraint consistency // Journal of Applied Crystallography. — 2015. — Vol. 48. — No. 6. — P. 1777-1784.

587. Madhavi Sastry G., Adzhigirey M., Day T., Annabhimoju R., Sherman W. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments // Journal of computer-aided molecular design. — 2013. — Vol. 27. — No. 3. — P. 221-234.

588. Bhachoo J., Beuming T. Investigating Protein-Peptide Interactions Using the Schrödinger Computational Suite // Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). — 2017. — Vol. 1561. — P. 235-254.

589. Schrödinger Release 2015-2: LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2015.

590. Kugler W., Veenman L., Shandalov Y., Leschiner S., Spanier I., Lakomek M., Gavish M. Ligands of the mitochondrial 18 kDa translocator protein attenuate apoptosis of human glioblastoma cells exposed to erucylphosphohomocholine // Cellular oncology : the official journal of the International Society for Cellular Oncology. — 2008. — Vol. 30. — No. 5. — P. 435-450.

591. Zhou Q.Y., Grandy D.K., Thambi L., Kushner J.A., Tol H.H.M.V., Cone R., Pribnow D., Salon J., Bunzow J.R., Civelli O. Cloning and expression of human and rat D1 dopamine receptors // Nature. — 1990. — Vol. 347. — No. 6288. — P. 76-80.

592. Grandy D.K., Marchionni M.A., Makam H., Stofko R.E., Alfano M., Frothingham L., Fischer J.B., Burke-Howie K.J., Bunzow J.R., Server A.C., Civelli O. Cloning of the cDNA and gene for a human D2 dopamine receptor. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1989. — Vol. 86. — No. 24. — P. 9762.

593. MacKenzie R.G., VanLeeuwen D., Pugsley T.A., Shih Y.H., Demattos S., Tang L.,

Todd R.D., O'Malley K.L. Characterization of the human dopamine D3 receptor expressed in transfected cell lines // European journal of pharmacology. — 1994. — Vol. 266. — No. 1. — P. 79-85.

594. Mulheron J.G., Casañas S.J., Arthur J.M., Garnovskaya M.N., Gettys T.W., Raymond J.R. Human 5-HT1A receptor expressed in insect cells activates endogenous G(o)-like G protein(s). // Journal of Biological Chemistry. — 1994. — Vol. 269. — No. 17. — P. 12954-12962.

595. Stam N.J., Vanderheyden P., van Alebeek C., Klomp J., de Boer T., van Delft A.M.L., Olijve W. Genomic organisation and functional expression of the gene encoding the human serotonin 5-HT2C receptor // European journal of pharmacology. — 1994. — Vol. 269. — No. 3. — P. 339-348.

596. Speth R.C., Wastek G.J., Yamamura H.I. Benzodiazepine receptors: Temperature dependence of [3H]flunitrazepam binding // Life Sciences. — 1979. — Vol. 24. — No. 4. — P. 351-357.

597. Murphy D.E., Snowhill E.W., Williams M. Characterization of quisqualate recognition sites in rat brain tissue using DL-[3H]alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) and a filtration assay // Neurochemical research. — 1987. — Vol. 12. — No. 9. — P. 775-781.

598. Gould R.J., Murphy K.M.M., Snyder S.H. [3H]nitrendipine-labeled calcium channels discriminate inorganic calcium agonists and antagonists // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1982. — Vol. 79. — No. 11. — P. 3656-3660.

599. Shoemaker H., Langer S.Z. [3H]diltiazem binding to calcium channel antagonists recognition sites in rat cerebral cortex // European journal of pharmacology. — 1985. — Vol. 111. — No. 2. — P. 273-277.

600. Reynolds I.J., Snowman A.M., Snyder S.H. (-)-[3H] desmethoxyverapamil labels multiple calcium channel modulator receptors in brain and skeletal muscle membranes: differentiation by temperature and dihydropyridines. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 1986. — Vol. 237. — No. 3.

601. Wagner J.A., Snowman A.M., Biswas A., Olivera B.M., Snyder S.H. Omega-conotoxin GVIA binding to a high-affinity receptor in brain: characterization, calcium sensitivity, and solubilization // The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. — 1988. — Vol. 8. — No. 9. — P. 3354-3359.

602. Brown G.B. 3H-batrachotoxinin-A benzoate binding to voltage-sensitive sodium channels: inhibition by the channel blockers tetrodotoxin and saxitoxin // The Journal of

neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. — 1986. — Vol. 6. — No. 7. — P. 2064-2070.

603. Pristupa Z.B., Wilson J.M., Hoffman B.J., Kish S.J., Niznik H.B. Pharmacological heterogeneity of the cloned and native human dopamine transporter: disassociation of [3H]WIN 35,428 and [3H]GBR 12,935 binding. // Molecular Pharmacology. — 1994. — Vol. 45. — No. 1. — P. 125-135.

604. Shank R.P., Baldy W.J., Mattucci L.C., Villani F.J. Ion and temperature effects on the binding of gamma-aminobutyrate to its receptors and the high-affinity transport system // Journal of neurochemistry. — 1990. — Vol. 54. — No. 6. — P. 2007-2015.

605. Tatsumi M., Jansen K., Blakely R.D., Richelson E. Pharmacological profile of neuroleptics at human monoamine transporters // European journal of pharmacology. — 1999. — Vol. 368. — No. 2-3. — P. 277-283.

606. Ряскина Е.В., Воронин М.В., Середенин С.Б. Взаимодействие производных 2-меркаптобензимидазола с σ1 рецепторами // Химико-фармацевтический журнал. — 2012. — Т. 46. — No. 6. — С. 12-13.

607. Jackson G.R., Werrbach-Perez K., Ezell E.L., Post J.F.M., Regino Perez-Polo J. Nerve growth factor effects on pyridine nucleotides after oxidant injury of rat pheochromocytoma cells // Brain Research. — 1992. — Vol. 592. — No. 1-2. — P. 239-248.

608. Twentyman P.R., Luscombe M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity // British Journal of Cancer. — 1987. — Vol. 56. — No. 3. — P. 279-285.

609. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. — М.: Гриф и К. — 2012. — 385–416 с.

610. Илюшкина И.А., Берчатова А.Н., Дьяченко И.А. Модели оценки новых противоаритмических препаратов // Биомедицина. — 2012. — No. 2. — С. 6-13.

611. Yamamoto S., Matsui K., Sasabe M., Ohashi N. Effect of an orally active Na+/H+ exchange inhibitor, SMP-300, on experimental angina and myocardial infarction models in rats // Journal of cardiovascular pharmacology. — 2002. — Vol. 39. — No. 2. — P. 234-241.