

Д. П. Каврайський, С. Ю. Штриголь, В. А. Георгіянец, Г. І. Северіна

Скринінгове дослідження нових похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону на протисудомну активність

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: фармакологічний скринінг, протисудомна активність, похідні піримідину, PASS-прогноз, коразол-індуковані судоми

Епілепсія за поширеністю є четвертим неврологічним захворюванням – частіше зустрічаються лише мігрень, інсульт і хвороба Альцгеймера [1]. На епілепсію страждає близько 50 мільйонів осіб, що складає до 1 % населення планети, і лише 70 % пацієнтів отримують задовільну терапію. В Україні 75 % з понад 100 тис. хворих на епілепсію не отримують необхідного лікування [2, 3]. У більшості випадків єдиним методом лікування є фармакотерапія [4]. Монотерапію вважають оптимальною, але 30–40 % пацієнтів потребують комбінованої терапії. До 70–80 % хворих при адекватному лікуванні позбавляються епілептичних нападів. Проте 20–30 % пацієнтів залишаються фармакорезистентними навіть при комбінації декількох препаратів. Тому проблема пошуку нових ефективних антиконвульсантів залишається відкритою [5–7].

Піримідинвмісні сполуки [8, 9], зокрема, піразолопіримідини та їхні похідні [10] останнім часом інтенсивно вивчають з метою розробки нових антиконвульсантів. На кафедрі фармацевтичної хімії НФаУ під керівництвом професора В. А. Георгіянец синтезовано 35 оригінальних похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону (рисунок), 33 з яких згідно з PASS-прогнозом мають досить високу ймовірність протисудомного ефекту ($P_a \geq 0,50$) [10, 11] (табл. 1).

Мета дослідження – з'ясувати вплив нових похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону на судомний синдром у скринінговому дослідженні.

Матеріали та методи. Скринінг сполук на протисудомну активність проводили згідно з методичними рекомендаціями [12, 13] на базовій моделі коразолових судом у мишей. Проконвульсивна дія коразолу зумовлена пригнічувальним впливом на ГАМКА-сайт бензодіазепінових рецепторів та зниженням ГАМК-ергічних гальмівних процесів.

Використано 240 білих статевозрілих нелінійних мишей обох статей масою 18–25 г. Тварин утримували в умовах віварію ЦНДЛ НФаУ відповідно до санітарно-гігієнічних норм та принципів Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах.

Мишей розподілили методом випадкового вибору на 37 груп, кожна з яких складала тварини обох статей: 1 група – контроль ($n = 17$) – модель судом, індукованих коразолом (пентилентетразол, «Sigma», США) у дозі 90 мг/кг підшкірно у вигляді водного розчину [2, 4]; 2 – група референс-препарату ($n = 6$) – вальпроат натрію («Депакін», Sanofi-Aventis, Франція) у дозі 300 мг/кг внутрішньошлунково за 30 хв до введення коразолу; 3–37 групи – піддослідні тварини ($n=5-8$), яким вводили досліджувані сполуки в емпіричних дозах 50–100 мг/кг крізь

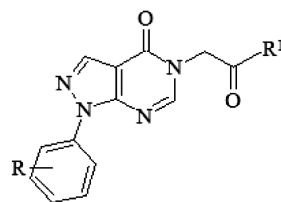
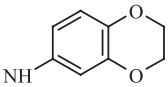
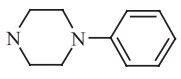
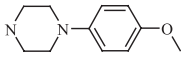
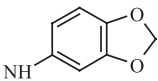
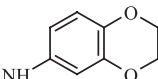
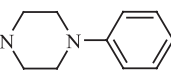
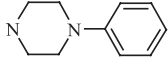
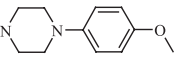
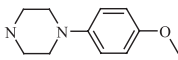
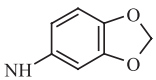


Рисунок. Базова структура похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону, використаних у скринінговому дослідженні протисудомної дії

Хімічна структура похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону та PASS-прогноз їхньої протисудомної активності (Pa)

Шифр	R	R1	Назва сполуки	Брутто-формула	Pa
77274	Br	NHPh	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-бензілацетамід	C ₁₉ H ₁₄ BrN ₅ O ₂	0,559
78216	Br	NHPh (4-Me)	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-метилбензіл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₆ BrN ₅ O ₂	0,529
78217	Br	NMePh	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-метилбензілацетамід	C ₂₀ H ₁₆ BrN ₅ O ₂	0,565
78219	Br	NHPh (4-OMe)	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-метоксибензіл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₆ BrN ₅ O ₃	0,503
78220	Br	NHPh (2,4-diOMe)	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2,4-диметоксибензіл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₈ BrN ₅ O ₄	0,541
78222	Br		2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2,3-дигідро-1,4-бензодіоксин-6-іл)ацетамід	C ₂₁ H ₁₆ BrN ₅ O ₄	0,588
78223	Br	NHPh (4-Cl)	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-хлоробензіл)ацетамід	C ₁₉ H ₁₃ BrClN ₅ O ₂	0,578
78224	Br	NHPh (3-Cl, 4-MeO)	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(3-хлоро-4-метоксибензіл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₅ BrClN ₅ O ₃	0,546
78225	Br		1-(4-бромобеніл)-5-[2-оксо-2-(4-бензілпіперазин-1-іл)етил]-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-d]піридин-4-он	C ₂₃ H ₂₁ BrN ₆ O ₂	0,589
78226	Br		1-(4-бромобеніл)-5-{2-[4-(4-метоксибензіл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-d]піридин-4-он	C ₂₄ H ₂₃ BrN ₆ O ₃	0,501
78227	Br	NHBen(4-Cl)	2-[1-(4-бромобеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-хлоробензіл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₅ BrClN ₅ O ₂	0,592

Шифр	R	R1	Назва сполуки	Брутто-формула	Pa
78235	4-OMe	NHPh	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-фенілацетамід	C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₃	0,535
78236	4-OMe	NHPh (4-OMe)	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-метоксифеніл)ацетамід	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₄	0,529
78237	2-Cl	NHPh	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-фенілацетамід	C ₁₉ H ₁₄ ClN ₅ O ₂	0,518
78238	2-Cl	NHPh (4-OMe)	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-метоксифеніл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₆ ClN ₅ O ₃	0,537
78288	4-OMe	NHPh (2,4-diOMe)	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2,4-диметоксифеніл)ацетамід	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O ₅	0,501
78297	4-OMe	NHPh (4-Me)	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-метилфеніл)ацетамід	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₃	0,502
78298	4-OMe	NMePh	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-метил-N-фенілацетамід	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₃	0,501
78299	4-OMe	NHPh (2-OMe)	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2-метоксифеніл)ацетамід	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₄	0,517
78300	4-OMe		N-(1,3-бензодіоксол-5-іл)-2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]ацетамід	C ₂₁ H ₁₇ N ₅ O ₅	0,541
78301	4-OMe		2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2,3-дигідро-1,4-бензодіоксин-6-іл)ацетамід	C ₂₂ H ₁₉ N ₅ O ₅	0,531
78302	4-OMe	NHPh (4-Cl)	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-хлорофеніл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₆ ClN ₅ O ₃	-
78303	4-OMe		1-(4-метоксифеніл)-5-[2-оксо-2-(4-фенілпіперазин-1-іл)етил]-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-d]піримідин-4-он	C ₂₄ H ₂₄ N ₆ O ₃	0,501

Шифр	R	R1	Назва сполуки	Брутто-формула	Pa
78304	4-OMe	NHBen(4-Cl)	2-[1-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-хлоробензил)ацетамід	C ₂₁ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	0,503
78307	2-Cl	NHPh (4-Cl)	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-хлорофеніл)ацетамід	C ₁₉ H ₁₃ Cl ₂ N ₅ O ₂	0,529
78308	2-Cl		1-(2-хлорофеніл)-5-[2-оксо-2-(4-фенілпіперазин-1-іл)етил]-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-d]піридин-4-он	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₆ O ₂	0,505
78340	4-Br	NHPh (4-OMe)	2-[1-(4-бромфеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2-метоксифеніл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₆ BrN ₅ O ₃	0,582
78342	2-Cl	NMePh	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-метил-N-фенілацетамід	C ₂₀ H ₁₆ ClN ₅ O ₂	0,524
78343	2-Cl	NHPh (2-OMe)	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2-метоксифеніл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₆ ClN ₅ O ₃	0,527
78346	2-Cl		1-(2-хлорофеніл)-5-{2-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-d]піридин-4-он	C ₂₄ H ₂₃ ClN ₆ O ₃	0,553
78347	2-Cl	NHBen(4-Cl)	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(4-хлоробензил)ацетамід	C ₂₀ H ₁₅ Cl ₂ N ₅ O ₂	0,544
78512	2-Cl	NHPh (2,4-diOMe)	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(2,4-диметоксифеніл)ацетамід	C ₂₁ H ₁₈ ClN ₅ O ₄	0,504
78513	2-Cl	NHPh (3-Cl, 4-MeO)	2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-(3-хлоро-4-метоксифеніл)ацетамід	C ₂₀ H ₁₅ Cl ₂ N ₅ O ₃	-
78553	4-OMe		1-(4-метоксифеніл)-5-{2-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-d]піридин-4-он	C ₂₅ H ₂₆ N ₆ O ₄	0,530
78603	4-Br		N-(1,3-бензодіоксол-5-іл)-2-[1-(4-бромфеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5Н-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]ацетамід	C ₂₀ H ₁₄ BrN ₅ O ₄	0,540

зонд у шлунок у вигляді суспензії у твіні-80 за 30 хв перед ін'єкцією коразолу.

Ефект сполук оцінювали за латентним періодом клонічних або тонічних судом, кількістю клоніко-тонічних пароксизмів на 1 мишу, кількістю тварин з клонічними та тонічними нападами, тяжкістю нападів, тривалістю судомного періоду, часом загибелі та летальністю. Якщо судом не наставали протягом 1 год, латентний період приймали за 60 хв. Тяжкість судом визначали в балах: 1 – здригання, 2 – манежний біг, 3 – клонічні напади, 4 – клоніко-тонічні судоми з боковим положенням, 5 – тонічна екстензія, 6 – тонічна екстензія, що призводить до загибелі тварин [14]. Статистичну значущість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента або за критерієм Уайта залежно від характеру розподілу, а при обліку в альтернативній формі – за кутовим перетворенням Фішера. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. За результатами скринінгу похідні піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону розподілили на 4 категорії: 3 сполуки з виразною протисудомною дією – за критерієм значного зниження летальності та/або зменшення низки ключових показників тяжкості судом (табл. 2); 16 сполук, що виявили тенденцію до антиконвульсивної дії – за критерієм зменшення 1–3 показників тяжкості судомного синдрому без вірогідного зниження летальності (табл. 3); 9 сполук без суттєвого впливу на перебіг судом – за критерієм відсутності впливу на жоден показник або наявності різноспрямованого впливу на 1–2 показники тяжкості або тривалості судом без вірогідного впливу на летальність (табл. 4); 7 сполук-проконвульсантів – за критерієм зростання тяжкості судом (перш за все за рахунок 100 % виявлення найнебезпечнішої тонічної екстензії) та збільшення летальності (табл. 5).

Сполука-лідер 78303 у дозі 100 мг/кг достовірно (на 42,1 %) зменшувала летальність відносно контролю, майже в 5 разів – тривалість судомного періоду, у 2,6 разу – кількість нападів на

Таблиця 2

Вплив похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону – лідерів за антиконвульсивною активністю – на коразолові судоми у мишей

Група тварин, сполука	n	Доза, мг/кг	Латентний період, хв	Кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу	Кількість мишей з судомами, %		Тяжкість судом, бал	Тривалість судомного періоду, хв	Час загибелі, хв	Летальність, %
					клонічними	тонічними				
Контроль	17	–	5,24 ± 1,74	3,06 ± 0,34	100	76,5	5,00 ± 0,20	9,74 ± 1,84	11,95 ± 1,39	58,8
Вальпроат натрію	6	300	7,62 ± 0,98	1,67 ± 0,65	100	66,7	3,67 ± 0,16*	2,43 ± 2,02*	–	0**
78303	6	100	24,71 ± 8,90*	1,17 ± 0,32*	83,3**	33,3**	3,17 ± 0,97	1,98 ± 1,19*	12,17	16,7**
78342	6	100	5,06 ± 1,09	1,80 ± 0,48*	100	66,7	4,00 ± 0,48	8,40 ± 3,95	5,73*	16,7**
78553	6	50	14,13 ± 9,12	1,00 ± 0,32*	83,3**	50,0	3,67 ± 0,97	1,80 ± 1,49*	10,42 ± 8,03	33,3

Примітка. Тут і в табл. 3–5: статистично значущі відмінності відносно контролю ($p \leq 0,05$); *за t-критерієм Стьюдента; **за кутовим перетворенням Фішера.

мишу за рахунок клонічних (на 16,7 %) і тонічних пароксизмів (більш ніж у 2 рази), збільшувала латентний період судом у 4,7 разу та виявляла тенденцію до зменшення їхньої тяжкості (табл. 2). Це свідчить про виразний протисудомний ефект сполуки 78303, за яким вона наближається до вальпроату натрію. Останній повністю запобіг летальності та значуще зменшив тяжкість і тривалість судом (табл. 2).

Ще одна сполука-лідер 78342 у дозі 100 мг/кг чинила дещо слабший антиконвульсивний ефект, статистично значуще зменшуючи летальність на 42,1 % і кількість клоніко-тонічних нападів (у 1,7 разу) при незмінному латентному періоді. Мала місце тенденція до зниження тяжкості судом у 1,25 разу та кількості мишей із тонічними пароксизмами на 10 %.

У тварин, яким вводили сполуку 78553 у дозі 50 мг/кг, спостерігали достовірне зменшення кількості клоніко-тонічних нападів на 1 мишу в 3 рази, а тривалості судомного періоду – у 5,4 разу. Кількість мишей з клонічними судомами достовірно зменшувалась на 16,7 %, спостерігалася тенденція до збільшення латентного періоду в 2,7 разу та зменшення тяжкості судом у 1,4 разу, кількості мишей з тонічними судомами – на 26,5 %. Летальність на тлі сполуки 78553 знижувалась на 25,5 %.

Похідні під шифрами 782107, 78219, 78220, 78223, 78224, 78225, 78226, 78237, 78298, 78302, 78304, 78307, 78340, 78347, 78512, 78603 виявили тенденцію до антиконвульсивної дії, критерії якої в окремих сполук відрізнялися (табл. 3). Без достовірного впливу на латентний період судом і летальність більшість з них за виключенням 78347 статистично значуще зменшувала кількість клоніко-тонічних пароксизмів у діапазоні від 1,5 до 2,3 разу та/або кількість тварин з клонічними нападами на 12,5–16,7 %, а сполуки 78223, 78298 та 78302 вірогідно зменшували тривалість судомного періоду відповідно в 2,8; 2,5 і 4,8 разу. Сполука 78340 достовірно зменшувала тяжкість судом у 1,2 разу. Похідна під шифром 78217 – єдина сполука цієї категорії, що вірогідно (удвічі) збільшила латентний період

судом, а також у 2,3 разу зменшила кількість нападів на 1 тварину, у 4,6 разу – тривалість судомного періоду, хоча й не зменшила летальність. На тлі сполуки 78603 кількість тварин з смертельно небезпечними тонічними пароксизмами зростала до 100 %, проте 4 з 6 мишей пережили ці найтяжчі напади, і летальність знизилася до 33,3 %. Під впливом сполуки 78347 статистично значущого зменшення жодного показника тяжкості судом не спостерігали, проте 6 з 8 показників мали тенденцію до поліпшення, летальність скоротилася на 21,4 %, що дало підставу розглядати зазначену речовину як носія помірних протисудомних властивостей.

Сполуки з шифрами 77274, 78227, 78235, 78238, 78297, 78299, 78300, 78308, 78513 суттєво не вплинули на коразолові судоми (табл. 4).

Інтегральний показник – летальність – на тлі їхнього застосування або невірогідно зменшився (у випадку сполуки 78308 – на 8,8 %), або збільшився (на 7,9–24,5 % під впливом решти сполук). Сполуки 78308, 78513 і 78300 не спричинили значущого впливу на жоден з показників, решта достовірно змінювала один з кількісних параметрів модельних судом, але не впливала ані на час загибелі, ані на летальність.

Виявлено 7 проконвульсантів: сполуки 78216, 78222, 78236, 78288, 78301, 78343 та 78346 (табл. 5). Усі миші на тлі цих сполук мали тонічні судоми, що достовірно вище, ніж у контролі. Речовини 78288, 78301, 78343 та 78346 виявили найсильнішу проконвульсивну дію, достовірно збільшуючи тяжкість судом у 1,2 разу, а летальність – до 100 %. Три сполуки (78301, 78343 та 78288) зменшували кількість клоніко-тонічних нападів у 1,8 разу, причому сполуки 78301 та 78288 значуще зменшували тривалість судомного періоду відповідно в 4,4 і 7,0 разу, але це пояснюється швидким прогресуванням тяжкості нападів з загибеллю мишей після перших судом. Час загибелі тварин на тлі сполуки 78288 достовірно зменшився в 1,8 разу.

Привертає увагу відсутність протисудомної дії в 16 похідних (45,7 % досліджених сполук), у тому числі прокон-

Вплив похідних піразолол[3,4-d]піримідин-4-ону, які продемонстрували тенденцію до антиконвульсивної дії, на перебіг корозолових судом у мишей

Група тварин, сполука	n	Доза, мг/кг	Латентний період, хв	Кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу	Кількість мишей з судомами, %		Тяжкість судом, бал	Тривалість судомного періоду, хв	Час загибелі, хв	Летальність, %
					клонічними	тонічними				
Контроль	17	–	5,24 ± 1,74	3,06 ± 0,34	100	76,5	5,00 ± 0,20	9,74 ± 1,84	11,95 ± 1,39	58,8
Вальпроат натрію	6	300	7,62 ± 0,98	1,67 ± 0,65	100	66,7	3,67 ± 0,16*	2,43 ± 2,02*	–	0**
78217	6	100	10,87 ± 2,08*	1,33 ± 0,32*	100	83,3	5,50 ± 0,48	2,10 ± 1,49*	14,44 ± 2,50	83,3
78219	6	100	14,54 ± 9,35	1,67 ± 0,48*	83,3**	66,7	4,50 ± 0,97	6,02 ± 2,42	15,00 ± 1,37	66,7
78220	6	100	5,00 ± 0,51	1,83 ± 0,32*	100	83,3	5,17 ± 0,48	6,11 ± 1,67	14,30 ± 0,97	66,7
78223	8	100	15,75 ± 6,96	1,63 ± 0,62*	87,5**	50,0	3,88 ± 0,74	3,47 ± 1,56*	14,01 ± 2,39	37,5
78224	8	100	10,91 ± 7,13	2,25 ± 0,50	87,5**	75,0	4,38 ± 0,74	12,10 ± 3,75	21,13 ± 4,29	50,0
78225	6	100	16,03 ± 8,98	1,50 ± 0,32*	83,3**	83,3	5,00 ± 0,97	5,49 ± 1,55	13,81 ± 1,33	83,3
78226	6	100	5,96 ± 2,46	2,00 ± 0,32*	100	83,3	5,17 ± 0,48	8,46 ± 2,54	13,87 ± 3,83	66,7
78237	6	100	5,00 ± 1,17	1,83 ± 0,32*	100	66,7	4,83 ± 0,48	6,73 ± 1,82	12,68 ± 1,94	66,7
78298	6	100	3,32 ± 0,66	1,83 ± 0,32*	100	66,7	5,00 ± 0,48	3,97 ± 1,63*	5,95 ± 3,17	66,7
78302	6	100	5,86 ± 1,47	1,50 ± 0,16*	100	66,7	4,67 ± 0,48	2,05 ± 1,12*	9,63 ± 1,95	50,0
78304	6	100	14,60 ± 9,37	1,33 ± 0,65*	83,3**	66,7	4,50 ± 0,97	3,16 ± 2,77	10,62 ± 5,08	66,7
78307	6	100	13,65 ± 9,30	1,67 ± 0,32*	83,3**	83,3	4,67 ± 0,97	9,73 ± 3,97	15,54 ± 5,75	66,7
78340	8	100	6,09 ± 1,71	1,75 ± 0,25*	100	62,5	4,13 ± 0,37*	9,75 ± 2,63	17,72 ± 7,48	37,5
78347	8	100	4,56 ± 0,98	2,38 ± 0,37	100	87,7	4,63 ± 0,37	8,66 ± 2,37	15,73 ± 5,86	37,5
78512	6	100	14,93 ± 9,15	2,50 ± 0,64	83,3**	83,3	4,67 ± 0,96	10,48 ± 3,40	17,41 ± 4,70	66,7
78603	6	100	3,59 ± 0,78	2,00 ± 0,32*	100	100**	4,83 ± 0,32	7,75 ± 2,52	11,00 ± 3,65	33,3

вувльсивна дія в 7 з них (20 % від загальної кількості похідних) усупереч результатам PASS-прогнозу, згідно з якими ймовірність антиконвульсивного ефекту для всіх сполук перевищує 0,500. Саме такий порядок прогностичних значень ймовірності досліджуваного виду активності зумовлює перспективність виявлення сполук з високим рівнем новизни (New Chemical Entity, NCE) [11]. Проте дисонанс очікуваних і отриманих результатів не є дивним, оскільки PASS-прогноз описує реальну ситуацію приблизно. Використовувані у вибірці, що навчає, оригінальні MNA дескриптори (Multilevel Neighbourhoods of Atoms), вочевидь, дозволяють не охарактеризувати точну модальність ефекту, характер впливу досліджуваної сполуки на судомний синдром (анти- чи, навпаки, проконвульсивний), а лише прогнозувати факт впливу певних фармакофорів на структури мозку, які беруть участь у судомній активності.

Зокрема, PASS-прогноз не враховує особливості просторової структури молекули, яка має значення як для афінітету останньої до біологічних мішеней, так і для прояву їхніх стимулюючих або інгібуючих властивостей.

Крім того, відсутня кореляція між прогнозованою ймовірністю протисудомної дії та її наявністю за результатами експерименту. Наприклад, для лідерів за протисудомною дією сполук 78303, 78342, 78553 Ра становить відповідно 0,501, 0,524 і 0,530, а для сполук з найвиразнішими проконвульсивними властивостями, які зумовили загибель 100 % тварин (78288, 78301, 78343 та 78346), Ра складає відповідно 0,501, 0,531, 0,524, 0,533. Найвища й майже однакова ймо-

Таблиця 4

Вплив похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону, які не виявили суттєвої дії на перебіг коразол-індукованих пароксизмів у мишей, на кількісні показники модельних судом

Група тварин, сполука	n	Доза, мг/кг	Латентний період, хв	Кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу	Кількість мишей з судомами, %		Тяжкість судом, бал	Тривалість судомного періоду, хв	Час загибелі, хв	Летальність, %
					клонічними	тонічними				
Контроль	17	–	5,24 ± 1,74	3,06 ± 0,34	100	76,5	5,00 ± 0,20	9,74 ± 1,84	11,95 ± 1,39	58,8
Вальпроат натрію	6	300	7,62 ± 0,98	1,67 ± 0,65	100	66,7	3,67 ± 0,16*	2,43 ± 2,02*	–	0**
78227	6	100	4,47 ± 0,92	2,83 ± 0,32	100	83,3	5,17 ± 0,48	15,93 ± 2,25*	18,66 ± 3,29	66,7
78235	6	100	4,50 ± 0,48	3,17 ± 0,81	100	100**	5,33 ± 0,48	13,63 ± 3,74	14,44 ± 5,21	66,7
78238	6	100	3,39 ± 0,86	1,83 ± 0,32*	100	83,3	5,17 ± 0,48	7,29 ± 2,48	14,83 ± 1,29	66,7
77274	6	100	10,77 ± 3,24	1,17 ± 0,16*	100	83,3	5,50 ± 0,48	1,94 ± 1,46*	11,62 ± 3,90	83,3
78297	5	100	14,74 ± 11,21	3,40 ± 0,81	80,0**	80,0	4,80 ± 0,97	7,84 ± 3,01	13,22 ± 4,34	80,0
78299	6	100	3,38 ± 3,38	2,00 ± 0,32*	100	83,3	5,50 ± 0,48	4,46 ± 1,59*	7,03 ± 2,02	83,3
78300	6	100	5,08 ± 1,47	2,17 ± 0,48	100	83,3	5,17 ± 0,48	7,37 ± 2,23	14,41 ± 4,49	66,7
78308	6	100	3,91 ± 0,77	2,17 ± 0,32	100	83,3	4,83 ± 0,48	9,23 ± 2,59	8,77 ± 1,36	50,0
78513	6	100	4,54 ± 0,72	2,17 ± 0,32	100	83,3	5,17 ± 0,42	7,95 ± 3,28	10,40 ± 3,44	66,7

вірність протисудомної дії прогнозувалася для сполук 78227 ($P_a = 0,592$), 78225 ($P_a = 0,589$) і 78222 ($P_a = 0,588$). Проте перша з них суттєво не вплинула на модельні судоми (лише вірогідно подовжила тривалість судомного періоду), друга виявила властивості антиконвульсанта помірної активності (лише зменшила кількість судом та частоту клонічних нападів), а третя – проконвульсанта з помірною активністю (збільшила частоту найтяжчих тонічних пароксизмів до 100 %).

Слід відзначити, що за даними комп'ютерної програми PASS для сполук 78302 та 78513 не було прогнозовано протисудомну активність. За результатами скринінгу сполука 78513 дійсно не вплинула на жоден прояв судомного синдрому, а сполука 78302 зменшувала кількість нападів і тривалість судомного періоду.

Результати фармакологічного скринінгу похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону дають підставу для аналізу закономірності зв'язку «структура – протисудомна активність». Дві сполуки-лідери за протисудомною дією (78303 та 78553) містять у своєму складі, крім спільних для всієї групи речовин піразолопіримідинового циклу, карбонільної групи в 4 положенні та ацетамідного фрагмента, залишок феніл- або 4-метоксифенілпіперазину та 4-метоксифенільний радикал у 1 положенні. Ці сполуки перевершують навіть препарат порівняння вальпроат натрію за тривалістю латентного періоду в 3,20 та 1,85 разу відповідно, а також достовірно зменшують кількість тварин з клонічними судомами. Заміна 4-метоксифенільного радикала на 4-бромфенільний у 1 положенні (сполуки 78225, 78226) дещо зменшує тривалість латентного періоду та підвищує летальність, а введення 2-хлорофенільного радикала в 1 положення призводить до зникнення протисудомного ефекту (78308) та навіть обумовлює проконвульсивний ефект з 100 % летальністю піддослідних тварин (78346). Отже, можна стверджувати, що для прояву протисудомної активності доцільним є поєднання двох фармакофорів: 4-метокси-

Таблиця 5

Вплив похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону, які виявляють проконвульсивні властивості, на перебіг корозолових судом у мишей

Група тварин, сполука	n	Доза, мг/кг	Латентний період, хв	Кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу	Кількість мишей		Тяжкість судом, бал	Тривалість судомного періоду, хв	Час загибелі, хв	Летальність, %
					з судомами, %	тонічними				
Контроль	17	–	5,24 ± 1,74	3,06 ± 0,34	100	76,5	5,00 ± 0,20	9,74 ± 1,84	11,95 ± 1,39	58,8
Вальпроат натрію	6	300	7,62 ± 0,98	1,67 ± 0,65	100	66,7	3,67 ± 0,16*	2,43 ± 2,02*	–	0**
78216	6	100	3,51 ± 0,63	2,00 ± 0,32*	100	100**	5,50 ± 0,32	9,05 ± 3,85	14,62 ± 4,63	83,3
78222	6	100	4,88 ± 1,25	1,83 ± 0,32*	100	100**	5,67 ± 0,32	4,57 ± 1,65*	10,01 ± 2,09	83,3
78236	6	100	5,84 ± 1,31	2,67 ± 0,65	100	100**	5,67 ± 0,32	9,59 ± 3,17	15,80 ± 4,15	83,3
78288	6	100	5,29 ± 0,93	1,67 ± 0,48*	100	100**	6,00 ± 0*	1,39 ± 0,85*	6,68 ± 0,67*	100**
78301	6	100	5,70 ± 1,61	1,67 ± 0,48*	100	100**	6,00 ± 0*	2,21 ± 1,60*	7,92 ± 1,85	100**
78343	6	100	7,36 ± 1,61	1,83 ± 0,16*	100	100**	6,00 ± 0*	6,75 ± 1,46	14,10 ± 2,67	100**
78346	6	100	4,13 ± 2,07	2,67 ± 0,64	100	100**	6,00 ± 0*	7,20 ± 2,70	11,33 ± 3,17	100**

фенільного та фенілпіперазинового радикала.

Чітка закономірність зв'язку «структура-дія» простежується й для третьої сполуки-лідера 78342, яка містить 2-хлорофенільний замісник у 1 положенні та N-метилфенілацетамідний фрагмент. Введення метильного радикала в амідний залишок сприяє зменшенню кількості судомних нападів (сполуки 78342 та 78237) і навіть зменшенню летальності піддослідних тварин (сполука 78342). Прояви протисудомної дії спостерігаються й в інших структурних аналогів – N-метилзаміщених та незаміщених амідах (78217 та 78274; 78298). Це можна пояснити збільшенням ліпофільності молекули при введенні алкільного радикала, що сприяє проникненню речовини крізь гематоенцефалічний бар'єр. Зважаючи на вищезазначене, слід вважати доцільним введення N-метилфенілацетаміду для посилення протисудомної дії похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону.

Для прояву антиконвульсивної активності важливим фармакофором є бензольний фрагмент: бензилзаміщені похідні піразолопіримідину продемонстрували тенденцію до антиконвульсивної дії (сполуки 78304, 78347), проте сполука 78227 не виявила впливу на судомний синдром. Протисудомна дія залежить і від замісника в арильного залишку в першому положенні: активність зменшується в порядку 4-OMe > 2-Cl > Br.

Введення оксовмісних гетероциклів до структури піразолопіримідинів є недоцільним. Сполуки 78300 та 78603, які містять залишок 1,3-бензодіоксолу, не виявили суттєвої протисудомної дії (остання хоча й зменшувала кількість нападів на 1 тварину, проте сприяла почастишанню найтяжчих тонічних судом), а сполуки 78222 та 78301 з залишком 2,3-дигідро-1,4-бензодіоксину мають проконвульсивні властивості.

Отже, результати дослідження свідчать про доцільність поглибленого вивчення протисудомної активності субстанцій-лідерів: дослідження механізму та спектра антиконвульсивної дії на моделях судом з різним патогенезом, супутніх видів фармакологічної активності, дозозалежності протисудомного ефекту, безпечності тощо. Результати також висвітлюють перспективні напрями цілеспрямованого створення оригінальних антиконвульсантів – похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону.

Висновки

1. На моделі коразолових судом у мишей проведено скринінгове дослідження впливу на судомний синдром 35 нових похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону, для яких згідно з результатами PASS-прогнозу передбачалась антиконвульсивна активність з імовірністю 0,501–0,592. Виявлено 3 сполуки-лідери з виразною протисудомною дією, 16 сполук з помірними антиконвульсивними властивостями, 9 сполук, індиферентних щодо модельних судом, і 7 сполук з властивостями проконвульсантів.
2. Лідерами за протисудомною активністю є сполуки під шифрами 78303 (1-(4-метоксифеніл)-5-[2-оксо-2-(4-фенілпіперазин-1-іл)етил]-1,5-дигідро-4H-піразоло[3,4-d]піридин-4-он), 78342 (2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5H-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-метил-N-фенілацетамід) у дозі 100 мг/кг та 78553 (1-(4-метоксифеніл)-5-{2-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро-4H-піразоло[3,4-d]піридин-4-он) у дозі 50 мг/кг.
3. Результати скринінгу дозволяють виявити закономірності впливу структури синтезованих речовин на їхню протисудомну активність та підтверджують доцільність поглибленого вивчення протисудомної активності субстанцій-лідерів.

1. England M. J. Epilepsy Across the Spectrum: Promoting Health and Understanding / M. J. England, C. T. Liverman, A. M. Schultz. – The National Academies Press, 2012. – 537 p.
2. Всемирная организация здравоохранения 2015 [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/ru/>
3. Харчук С. М. Эпилепсия в Украине. Значимые даты и события / С. М. Харчук. – Здоров'я України, 2012. – 58 с.

4. The Epilepsies. Clinical Guidelines and Evidence Review for the Epilepsies: diagnosis and management in adults and children in primary and secondary care / T. Stokes, E. J. Shaw, A. Juarez-Garcia [et al.]. – London : Royal College of General Practitioners, 2004. – 347 p.
5. Mattson R. H. Drug treatment of partial epilepsy / R. H. Mattson // Adv. Neurol. – 1992. – V. 57. – P. 643–650.
6. Meador K. J. Newer anticonvulsants: Dosing strategies and cognition in treating patients with mood disorders and epilepsy / K. J. Meador // Clin. Psychiatry J. – 2003. – V. 64. – P. 30–34.
7. Stefan H. Novel anticonvulsant drugs / H. Stefan, T. Feuerstein // Pharmacol Ther. J. – 2007. – V. 113, № 1. – P. 165–183.
8. Synthesis of 5-Alkoxythieno[2,3-e][1,2,4]triazolo[4,3-c]pyrimidine. Derivatives and Evaluation of Their Anticonvulsant Activities / W. Shi-Ben, P. Guang-Chun, Zh. Hong-Jian, Q. Zhe-Shan // Molecules J. – 2015. – V. 22, № 1. – P. 6827–6843.
9. Synthesis and evaluation of anticonvulsant and antidepressant activities of 5-alkoxytetrazolo[1,5-c]thieno[2,3-e]pyrimidine derivatives / S. B. Wang, X. Q. Deng, Y. S. Zheng [et al.] // Eur. Med. Chem. J. – 2012. – V. 56, № 1. – P. 139–144.
10. Synthesis and alkylation of 1-aryl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ones as possible anticonvulsant agents / A. I. Severina, V. A. Georgiyants, S. Yu. Shtrygol, D. P. Kavraiskiy // Der Pharma Chemica J. – 2015. – V. 7, № 11. – P. 43–48.
11. Поройков В. В. Компьютерное предсказание биологической активности веществ / В. В. Поройков [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ibmp.msk.su/PASS>
12. Головенко М. Я. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів : метод. рекомендації / М. Я. Головенко, Л. О. Громов. – Київ : ВД «Авіцена», 2003. – 26 с.
13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая ; Под ред. А. Н. Миронова, Н. Д. Бунятян, А.Н. Васильева [и др.]. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
14. Штрыголь С. Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах : монография / С. Ю. Штрыголь. – Харьков : Авеста-ВЛТ, 2007. – 360 с.

Д. П. Каврайський, С. Ю. Штрыголь, В. А. Георгіянц, Г. І. Северіна
Скринінгове дослідження нових похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону
на протисудомну активність

Мета дослідження – з'ясувати вплив на судомний синдром 35 оригінальних похідних піразоло[3,4-d]піримідин-4-ону, які згідно з PASS-прогнозом характеризуються високою ймовірністю антиконвульсивної дії. Використано базову скринінгову модель коразолових судом у мишей. Сполуки (50–100 мг/кг) та референс-препарат вальпроат натрію (300 мг/кг) вводили внутрішньошлунково за 30 хв до підшкірного введення коразолу.

Виявлено 3 сполуки-лідери з виразною протисудомною дією, 16 сполук з помірними антиконвульсивними властивостями, 9 сполук, індивідуальних щодо модельних судом, і 7 сполук з властивостями проконвульсантів. Лідерами за протисудомною активністю є сполуки під шифрами 78303 (1-(4-метоксифеніл)-5-[2-оксо-2-(4-фенілпіперазин-1-іл)етил]-1,5-дигідро-4H-піразоло[3,4-d]піримідин-4-он), 78342 (2-[1-(2-хлорофеніл)-4-оксо-1,4-дигідро-5H-піразоло[3,4-d]піримідин-5-іл]-N-метил-N-фенілацетамід) та 78553 (1-(4-метоксифеніл)-5-{2-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро-4H-піразоло[3,4-d]піримідин-4-он). Вони значно зменшували летальність, кількість та/або тяжкість судомних нападів та збільшували їхній латентний період. Шістнадцять сполук з тенденцією до антиконвульсивної дії достовірно поліпшували від 1 до 3 параметрів модельних судом, але не впливали на летальність. Результати скринінгу дозволили виявити закономірності впливу структури синтезованих речовин на протисудомну активність. Виразному антиконвульсивному ефекту сприяють карбонільна група в 4 положенні та ацетамідний фрагмент, залишок феніл- або 4-метоксифеніл-піперазину та 4-метоксифенільний радикал у 1 положенні (сполуки 78303, 78553), а також 2-хлорофенільний замісник у 1 положенні та N-метилфенілацетамідний фрагмент (сполука 78342). Введення оксовмісних гетероциклів до структури піразолопіримідинів є недоцільним, оскільки послаблює протисудомний ефект та навіть зумовлює проконвульсивні властивості.

Ключові слова: фармакологічний скринінг, протисудомна активність, похідні піразолопіримідину, PASS-прогноз, коразол-індуковані судоми

Д. П. Каврайский, С. Ю. Штрыголь, В. А. Георгианц, А. И. Северина
Скрининговое исследование новых производных пиразоло[3,4-d]пиримидин-4-она на противосудорожную активность

Цель исследования – выяснить влияние на судорожный синдром 35 оригинальных производных пиразоло[3,4-d]пиримидин-4-она, которые в соответствии с PASS-прогнозом характеризуются высокой вероятностью антиконвульсивного действия. Использована базовая скрининговая модель коразоловых судорог у мышей. Вещества (50–100 мг/кг) и референс-препарат вальпроат натрия (300 мг/кг) вводили внутривенно за 30 мин до подкожного введения коразола.

Выявлены 3 соединения-лидеры с выраженным противосудорожным действием, 16 веществ с умеренными антиконвульсивными свойствами, 9 веществ, индифферентных относительно модельных судорог, и 7 соединений со свойствами проконвульсантов. Лидерами по противосудорожной активности являются вещества под шифрами 78303 (1-(4-метоксифенил)-5-[2-оксо-2-(4-фенилпиперазин-1-ил)этил]-1,5-дигидро-4Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-он), 78342 (2-[1-(2-хлорофенил)-4-оксо-1,4-дигидро-5Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-5-ил]-N-метил-N-фенилацетамид) и 78553 (1-(4-метоксифенил)-5-{2-[4-(4-метоксифенил)пиперазин-1-ил]-2-оксоэтил}-1,5-дигидро-4Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-он). Они значительно уменьшали летальность, количество и/или тяжесть судорожных приступов и увеличивали их латентный период. Шестнадцать веществ с тенденцией к антиконвульсивному действию достоверно улучшали от 1 до 3 параметров модельных судорог, но не влияли на летальность. Результаты скрининга позволили выявить закономерности влияния структуры синтезированных веществ на противосудорожную активность. Выраженному антиконвульсивному эффекту способствуют карбонильная группа в 4 положении и ацетамидный фрагмент, остаток фенил- или 4-метоксифенил-пиперазина и 4-метоксифенильный радикал в 1 положении (соединения 78303, 78553), а также 2-хлорофенильный заместитель в 1 положении и N-метилфенилацетамидный фрагмент (вещество 78342). Введение оксосодержащих гетероциклов в структуру пиразолопиримидинов нецелесообразно, поскольку ослабляет противосудорожный эффект и даже обуславливает проконвульсивные свойства.

Ключевые слова: фармакологический скрининг, противосудорожная активность, производные пиразолопиримидина, PASS-прогноз, коразол-индуцированные судороги

D. P. Kavraiskiy, S. Yu. Shtrygol', V. A. Georgiyants, A. I. Severina **Screening study of novel pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-one derivatives for anticonvulsant activity**

The aim of the research is to establish the efficacy of 35 novel pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-one derivatives on experimental models of seizures. In accordance with the PASS program prediction, these substances are characterized by high probability of anticonvulsant action. A basic screening model of pentylenetetrazol-induced seizures in mice was used in the study. The investigated compounds (50–100 mg/kg) and a reference drug sodium valproate (300 mg/kg) were administered intragastrically 30 min before subcutaneous injection of convulsant agent.

The results have allowed to identify 3 leaders with a clear anticonvulsant effect, 16 compounds with moderate anticonvulsive properties, 9 indifferent compounds, and 7 compounds with proconvulsive properties. According to anticonvulsant activity, the leaders were defined, namely the compounds under the codes 78303 (1-(4-methoxyphenyl)-5-[2-oxo-2-(4-phenylpiperazine-1-yl)ethyl]-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyridine-4-one), 78342 (2-[1-(2-chlorophenyl)-4-oxo-1,4-dihydro-5H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-5-yl]-N-methyl-N-phenylacetamide) and 78553 (1-(4-methoxyphenyl)-5-{2-[4-(4-methoxyphenyl)piperazine-1-yl]-2-oxoethyl}-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyridine-4-one). They significantly reduced mortality, the number of seizures and/or their severity and prolonged the latency period. 16 compounds with a tendency to anticonvulsive action significantly improved from 1 to 3 parameters of pentylenetetrazol-induced seizures but had no effect on lethality rate. The results of screening revealed the relationship between the structure of compounds and their anticonvulsant activity. Carbonyl group at position 4 and acetamide group, phenyl- or 4-methoxyphenyl-piperazine functional group, 4-methoxyphenyl radical at position 1 (compounds 78303, 78553), and 2-chlorophenyl substituent at position 1 with N-methylphenyl acetamide residue (compound 78342) contributed to pronounced anticonvulsant activity. Incorporation of heterocyclic substituents containing oxy-group into pyrazolopyrimidine structures is not expedient, because it causes the decrease in anticonvulsant effect and even the appearance of proconvulsive action.

Key words: pharmacological screening, anticonvulsant activity, pyrazolopyrimidine derivatives, PASS, pentylenetetrazol-induced seizures

Надійшла: 1 квітня 2016 р.

Контактна особа: Каврайський Дмитро Павлович, аспірант, кафедра фармакології та лікарської токсикології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 30 69. Електронна пошта: kavraiskiy@gmail.com