

УДК 547.89

**С. Ю. Бачинський<sup>1</sup>, Н. А. Буренкова<sup>1</sup>, Ю. В. Ішков<sup>2</sup>, В. Х. Кравцов<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України,

Люстдорфська дорога 86, Одеса, 65080, Україна, e-mail: bachinskysergey@gmail.com

<sup>2</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, вул. Дворянська 2, м. Одеса, 65026, Україна, e-mail: jvi@onu.edu.ua<sup>3</sup>Інститут прикладної фізики АНМ, ул. Академієй, 5, м. Кишинів, MD-2028, Республіка Молдова, kravtsov.xray@phys.asm.md**СИНТЕЗ, БУДОВА ТА АФІНІТЕТ ДО РЕЦЕПТОРІВ ЦНС  
8-БРОМ-11-МЕТИЛ-6-ФЕНІЛ-11-ПІРИМІДО[4,5-*b*][1,4]  
БЕНЗОДІАЗЕПІНУ**

Взаємодію 7-бром-1-метил-5-феніл-1,3-дигідро-2*H*-1,4-бензодіазепін-2-ону з формамідом в присутності хлорокису фосфору синтезовано 8-бром-11-метил-6-феніл-11-піримідо[4,5-*b*][1,4]бензодіазепін, будову якого підтверджено методами мас-спектрометрії, <sup>1</sup>H ЯМР спектроскопії, а також рентгеноструктурним аналізом. Вивчено афінитет синтезованої сполуки до центральних і периферичних бензодіазепінових рецепторів ЦНС.

**Ключові слова:** 7-бром-1-метил-5-феніл-1,3-дигідро-2*H*-1,4-бензодіазепін-2-он, формамід, хлорокис фосфору, 8-бром-11-метил-6-феніл-11-піримідо[4,5-*b*][1,4]бензодіазепін, бензодіазепінові рецептори, TSPO-рецептори, афінитет.

**ВСТУП**

1,4-Бензодіазепіни широко використовуються в якості анксиолітичних, антидепресантних, заспокійливих, протисудомних і снодійних засобів. Відомо, що основною мішенню для бензодіазепінів є рецептор гамма-аміномасляної кислоти центральної нервової системи (ЦНС), тобто ЦБДР. [1, 2]. Проте у пошуку специфічних місць зв'язування бензодіазепінів поза ЦНС був виявлений новий клас місць їх зв'язування у нирках [3], а незабаром – практично у всіх тканинах організму [4–7]. Цей клас місць зв'язування спочатку носив назву периферичних (ПБДР) або мітохондріальних бензодіазепінових рецепторів, а пізніше – протеїна-транслокатора, скорочено (TSPO) – назва яка була прийнята в 2006 році з урахуванням нових досліджень його структури і молекулярних функцій [8].

Велика кількість заміщених 1,4-бензодіазепін-2-онів проявляє анксиолітичну, снодійну, міорелаксантну, антидепресантну та гепатопротекторну дію. Серед них відкриті та активно застосовуються в клініці більше ніж 40 препаратів, такі як діазепоксид, діазепам, нітразепам, феназепам, алпразолам, естазолам та ін. Пошуки лікарських засобів серед нових похідних вищезгаданих бензодіазепінів активно продовжуються.

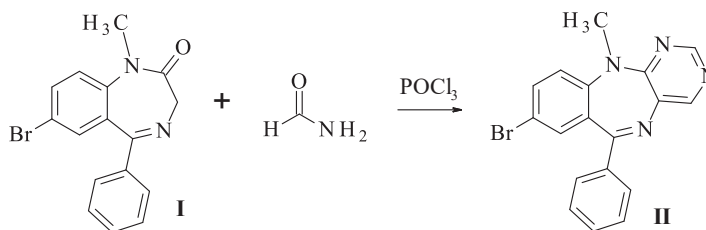
Однак, залишається велика кількість недосліджених або малодосліджених класів 1,4-бензодіазепінів, до яких відносяться анельовані по положенню 2,3-бензодіазепіни, а саме 1,4-бензодіазепіни з анельованим по положенню 2,3 піримідиновим кільцем. Інформації щодо синтезу, хімічних і фармакологічних властивостей цих похідних напрочуд дуже мало [9–12].

В зв'язку з вищезгаданим метою цієї роботи є синтез 1,4-бензодіазепінової системи з анельованим по положенню 2–3 цієї системи піримідиновим циклом та вивчення афінітету синтезованої сполуки до центральних і периферичних бензодіазепінових рецепторів, а також, в перспективі, дослідження її фармакологічних властивостей.

### ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

У цій роботі описано синтез 8-бром-11-метил-6-феніл-11-піримідо[4,5-*b*][1,4]бензодіазепіну, підтверджена його будова та досліджено афінітет синтезованої сполуки до центральних і периферичних бензодіазепінових рецепторів.

Синтез здійснювався в умовах, описаних в роботі [9]. Реакцію проводили при нагріванні 1,4-бензодіазепіну **I** з формамідом в розчині хлорокису фосфору з отриманням сполуки **II**.



Будову сполуки **II** підтверджено методами мас-спектрометрії і ЯМР  $^1\text{H}$  спектроскопії, а також методом РСА. Спектральні характеристики синтезованої сполуки наведені нижче в методиці синтезу.

В мас-спектрі сполуки **II**, що отриманий методом електронного удару, присутній пік очікуваного молекулярного іону. У спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  сполуки **II** присутні сигнали всіх типів протонів, що є у цій молекулі.

Молекулярна і кристалічна структура сполуки **II** вивчена методом РСА. Загальний вигляд молекули показаний на рисунку.

По даним рентгенофазового аналізу сполука **II** відноситься до триклінної сингонії, прострова група  $P-1$ ,  $a = 8.4250(4) \text{ \AA}$ ,  $b = 9.1080(4) \text{ \AA}$ ,  $c = 10.2510(4) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 76.668(3)^\circ$ ,  $\beta = 79.920(2)^\circ$ ,  $\gamma = 85.703(3)^\circ$ ,  $V = 753.105 \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 2$ , R-фактор 3.67%.

Методом радіолігандного аналізу вивчено афінітет сполуки **II** до центральних і периферичних бензодіазепінових рецепторів ЦНС. Експеримент проведений на білих безпородних щурах самцях масою 180–220 г. Використовували наступні радіоліганди:  $[^3\text{H}]$  флумазеніл (ЦБДР) та  $[^3\text{H}]$  РК 11195 (ПБДР).

В результаті радіолігандних досліджень було встановлено, що сполука **II** в концентрації  $1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$  інгібує специфічне зв'язування радіоліганду  $[^3\text{H}]$  флумазенілу з ЦБДР на 43,7%, що вказує на наявність помірного афінітету до ЦБДР.

Також встановлено, що сполука **II** в концентрації  $1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$  інгібує специфічне зв'язування радіоліганду  $[^3\text{H}]$  РК 11195 з ПБДР на 3,7%, що вказує на практичну відсутність афінітету до ПБДР.

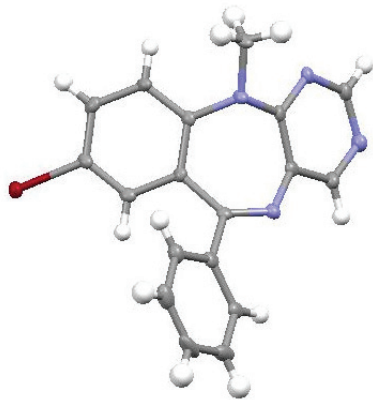


Рис. Молекулярна структура 8-бром-11-метил-6-феніл-11-піримідо[4,5-*b*][1,4]бензодіазепіну (II)

Fig. Molecular structure of 8-bromo-11-methyl-6-phenyl-11-pyrimido[4,5-*b*][1,4]benzodiazepine (II)

Враховуючи вищезгадане, наявність помірного афінитету сполуки II до ЦБДР та селективність зв'язування цієї сполуки з ЦБДР відносно ПБДР представляє інтерес для подальшого дослідження цього класу сполук у якості потенційних анксиолітиків нового типу.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Контроль за перебігом реакції і чистотою отриманої сполуки здійснювали методом ТШХ на пластинках «Silufol UV-254» в системі хлороформ-метанол 10:1 з візуалізацією в УФ-світлі ( $\lambda = 254$  нм).

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  реєстрували в ~2% розчині сполуки в  $\text{CDCl}_3$  на приладі Bruker (300 МГц), внутрішній стандарт ТМС.

Мас-спектр сполуки отримано методом електронного удару на мас-спектрометрі MX-1321, іонізуюча напруга 70 еВ, температура камери іонізації 220 °С.

**Рентгеноструктурний аналіз.** Монокристал 8-бром-11-метил-6-феніл-11-піримідо[4,5-*b*][1,4]бензодіазепіну (II) був вирощений кристалізацією з етанолу. Рентгеноструктурне дослідження монокристала проведено на дифрактометрі KUMA-4CCD ( $\text{MoK}_\alpha$  – випромінювання,  $\omega$ -сканування при 123 К).

### 8-Бром-11-метил-6-феніл-11-піримідо[4,5-*b*][1,4]бензодіазепін (II)

1,4-Бензодіазепін-2-он (I) 0.9 г (0.0027 моль) і формамід 0.27 мл (0.0067 моль) поміщають в колбу і при охолодженні приливають 5 мл (0.05 моль) хлорокису фосфору. Після чого колбу залишають при кімнатній температурі на 10 хвилин і нагрівають при перемішуванні при 110 °С впродовж 12 годин. Після охолодження реакційну суміш розчиняють в етилацетаті і промивають 4М NaOH при охолодженні і далі водою до нейтральної реакції. Органічний шар сушать над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і упарю-

ють досуха. Продукт перекристалізовують з етанолу. Вихід продукту 0.1 г, (10%).  
T<sub>плав.</sub> 210–212 °С. Мас-спектр, m/z (I<sub>отн.</sub> %): 364 [M] (100). ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.ч.: 8.63 уш. с., 8.49 уш. с. (2H, пірим.), 7.75 д., 7.56 дд., 7.52 д., 7.46 м. (5H фенол), 7.48 с., 7.19 д., 6.97 д. (3H, бромфен.).

## ВИСНОВКИ

В роботі описано синтез та підтверджено будову нового похідного 1,4-бенздіазепінів, що містить анельований піримідиновий фрагмент в положенні 2,3-діазепінового циклу. Проведено дослідження афінитету нової сполуки до ЦБДР та ПБДР рецепторів ЦНС. Встановлена висока селективність зв'язування синтезованої сполуки з рецепторами ЦБДР відносно ПБДР, та показана доцільність подальших фармакологічних досліджень цього класу сполук.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Haefely W., Kulcsar A., Mohler H., Pieri L., Polc P., Schaffner R.* Possible involvement of GABA in the central actions of benzodiazepine derivatives // *Adv. Biochem. Psychopharm.* Eds. Costa E., Greengard P. – 1975. – Raven, New York. – Vol. 14. – P. 131–151.
2. *Costa E., Guidotti A.* Molecular mechanism in the receptor actions of benzodiazepines // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 1979. – Vol. 19. – P. 531–545. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.19.040179.002531>
3. *Braestrup C., Squires R.F.* Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity [<sup>3</sup>H] diazepam binding // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1977. – Vol. 74, N9. – P. 3805–3809. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.9.3805>
4. *Verma A., Snyder S.H.* Peripheral type benzodiazepine receptors // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 1989. – Vol. 29, N1. – P. 307–322. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.29.040189.001515>
5. *Gavish M., Katz Y., Bar-Ami S., Weizman R.* Biochemical, physiological, and pathological aspects of the peripheral benzodiazepine receptor // *J. Neurochem.* – 1992. – Vol. 58, N5. – P. 1589–1601. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb10030.x>
6. *Papadopoulos V.* Peripheral-type benzodiazepine/diazepam binding inhibitor receptor: biological role in steroidogenic cell function // *Endocr. Rev.* – 1993. – Vol. 14, N2. – P. 222–240. <https://doi.org/10.1210/er.14.2.222>
7. *Parola A.L., Yamamura H.I., Laird H.E.* Peripheral-type benzodiazepine receptors // *Life Sci.* – 1993. – Vol. 52, N16. – P. 1329–1342. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(93\)90168-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90168-3)
8. *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 (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2006. – Vol. 27, N8. – P. 402–409. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(93\)90168-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90168-3)
9. *Kobayashi S.* Synthesis of pyrimidine-fused 1,4-benzodiazepines // *Chem. Lett.* – 1974. – Vol. 3, N9. – P. 967–970. <https://doi.org/10.1246/cl.1974.967>
10. *Kobayashi S.* Pyrimidine-Fused 1,4-Benzodiazepines. Reaction of 1,4-Benzodiazepines with Formamide-POCl<sub>3</sub> // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 1975. – Vol. 48, N1. – P. 302–306. <https://doi.org/10.1246/bcsj.48.302>
11. *Yang J., Che X., Dang Q., Wei Z., Gao S., Bai X.* Synthesis of Tricyclic 4-Chloro-pyrimido[4,5-b][1,4] benzodiazepines // *Org. Lett.* – 2005. – Vol. 7, N8. – P. 1541–1543. <https://doi.org/10.1021/ol050181f>
12. *Mohsin N.A., Qadir M.I.* Recent Structure Activity Relationship Studies of 1,4-Benzodiazepines // *Open J. Chem.* – 2015. – Vol. 1, N1. – P. 008–012. <https://doi.org/10.17352/pjmcr.000002>

Стаття надійшла до редакції 03.09.2022

S. Yu. Bachinsky<sup>1</sup>, N.A. Burenkova<sup>1</sup>, Yu. V. Ishkov<sup>2</sup>, V. Kh. Kravtsov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>A.V.Bogatsky Physico-Chemical Institute of NAS of Ukraine, 86 Lustdorfska Doroga Str., 65080, Odessa, Ukraine email: bachinskysergey@gmail.com

<sup>2</sup>I.I. Mechnikov Odessa National University, 2, Dvoryanska Str., 65026, Odessa, Ukraine, jvi@onu.edu.ua

<sup>3</sup>Institute of Applied Physics, Academy of Sciences of Moldova, str. Academy, 5, MD-2028, Chisinau, Moldova, kravtsov.xray@phys.asm.md

## SYNTHESIS, STRUCTURE AND AFFINITY TO CNS RECEPTORS 8-BROM-11-METHYL-6-PHENYL-11-PYRIMIDO[4,5-b][1,4]BENZODIAZEPINE

The purpose of this work is the synthesis of an annelated with pyrimidine system at position 2–3 of the diazepine cycle and the study of the affinity of the synthesized compound for the central benzodiazepine receptors (CBDR) and peripheral benzodiazepine receptors (PBDR) of the CNS, as well as, in the future, the study of pharmacological properties. The synthesis of 8-bromo-11-methyl-6-phenyl-11-pyrimido[4,5-b][1,4]benzodiazepine **II** was carried out by heating 7-bromo-1-methyl-5-phenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one **I** with formamide in a solution of phosphorus oxychloride. The structure of compound **II** was confirmed by mass spectrometry and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, as well as by X-ray diffraction analysis. <sup>1</sup>H NMR spectrum was recorded in ~2% solution of the compound in CDCl<sub>3</sub> on the Bruker (300 MHz), internal standard TMS. Mass spectrum of the compound was obtained by electron impact on an mass spectrometer, “MX-1321”, ionizing voltage 70 eV, ionization chamber temperature 220 °C. The X-ray diffraction study of the single crystal was carried out on a KUMA-4CCD diffractometer using MoKα – radiation with ω-scanning at 100 K. The affinity of compound **II** to the central and peripheral benzodiazepine receptors of the CNS was studied by radioligand analysis. The experiment was carried out on nonpedigreed male rats with mass 180–220 g. The following radioligands were used: [<sup>3</sup>H]flumazenil (CBDR) and [<sup>3</sup>H]RK 11195 (PBDR). As a result of radioligand studies, it was found that compound **II** at a concentration of 1 10<sup>-6</sup> M inhibits the specific binding of the radioligand [<sup>3</sup>H]flumazenil to CBDR by 43.7%, which indicates the presence of a moderate affinity for CBDR. It was also found that compound **II** at a concentration of 1 10<sup>-6</sup> M inhibits the specific binding of the radioligand [<sup>3</sup>H]RK 11195 with PBDR by 3.7%, which indicates the practical absence of affinity for PBDR. The presence of a moderate affinity of compound **II** for CBDR and the selectivity of the binding of this compound to CBDR with respect to PBDR is of interest for further studies of this class of compounds as potential anxiolytics of a new type.

**Keywords:** 7-bromo-1-methyl-5-phenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one, formamide, phosphorus oxychloride, 8-bromo-11-methyl-6-phenyl-11-pyrimido[4,5-b][1,4]benzodiazepine, X-ray analysis, benzodiazepine receptors, TSPO receptors, affinity.

## REFERENCES

1. Haefely W., Kulcsar A., Mohler H., Pieri L, Polc P, Schaffner R. *Possible involvement of GABA in the central actions of benzodiazepine derivatives*. Advances in Biochemical Psychopharmacology Eds. Costa E., Greengard P., 1975, Raven, New York, vol. 14, pp. 131–151.
2. Costa E., Guidotti A. *Molecular mechanism in the receptor actions of benzodiazepines*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1979, vol. 19, pp. 531–545. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.19.040179.002531>
3. Braestrup C., Squires R.F. *Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity [<sup>3</sup>H]diazepam binding*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1977, vol. 74, no 9, pp. 3805–3809. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.9.3805>
4. Verma A., Snyder S.H. *Peripheral type benzodiazepine receptors*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1989, vol. 29, no 1, pp. 307–322. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.29.040189.001515>
5. Gavish M., Katz Y., Bar-Ami S., Weizman R. *Biochemical, physiological, and pathological aspects of the peripheral benzodiazepine receptor*. J. Neurochem., 1992, vol. 58, no 5, pp. 1589–1601. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb10030.x>

6. Papadopoulos V. *Peripheral-type benzodiazepine/diazepam binding inhibitor receptor: biological role in steroidogenic cell function*. *Endocr. Rev.*, 1993, vol. 14, no 2, pp. 222–240. <https://doi.org/10.1210/er.14.2.222>
7. Parola A.L., Yamamura H. I., Laird H. E. *Peripheral-type benzodiazepine receptors*. *Life Sci.*, 1993, vol. 52, no 16, pp. 1329–1342. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(93\)90168-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90168-3)
8. 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 (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function*. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2006, vol. 27, no 8, pp. 402–409. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(93\)90168-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(93)90168-3)
9. Kobayashi S. *Synthesis of pyrimidine-fused 1,4-benzodiazepines*. *Chem. Lett.*, 1974, vol. 3, no 9, pp. 967–970. <https://doi.org/10.1246/cl.1974.967>
10. Kobayashi S. *Pyrimidine-Fused 1,4-Benzodiazepines. Reaction of 1,4-Benzodiazepines with Formamide- $POCl_3$* . *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1975, vol. 48, no 1, pp. 302–306. <https://doi.org/10.1246/bcsj.48.302>
11. Yang J., Che X., Dang Q., Wei Z., Gao S., Bai X. *Synthesis of Tricyclic 4-Chloro-pyrimido[4,5-b][1,4] benzodiazepines*. *Org. Lett.*, 2005, vol. 7, no 8, pp. 1541–1543. <https://doi.org/10.1021/ol050181f>
12. Mohsin N.A., Qadir M. I. *Recent Structure Activity Relationship Studies of 1,4-Benzodiazepines*. *Open J. Chem.*, 2015, vol. 1, no 1, pp. 008–012. <https://doi.org/10.17352/pjmcr.000002>