

УДК: 547.892:547-327: 615.214.22/.24

С. Ю. Бачинський¹, Н. О. Буренкова¹, С. А. Андронаті¹, Ю. В. Ішков²¹Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України,
Люстдорфська дорога 86, Одеса, 65080, Україна,
e-mail: bachinskysergey@gmail.com²Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, вул. Дворянська 2, м.Одеса,
65026, Україна, e-mail: jvi@onu.edu.ua

СИНТЕЗ ТА ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ 1-ГІДРАЗИНОКАРБОНІЛМЕТИЛ-7-БРОМ-5-ФЕНІЛ-3-АРИЛІДЕН- 1,2-ДИГІДРО-3H-1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІН-2-ОНІВ

Синтезовано низку раніше не описаних 1-гідразінокарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів. Показано, що застосована методика гідразінолізу забезпечує високі виходи очікуваних сполук. Будову синтезованих сполук підтверджено методами мас-спектрометрії і ¹H ЯМР спектроскопії. Вивчено інгібування зв'язування радіолігандів [³H]флумазеніла і [³H]ПК 11195 до центральних бензодіазепінових рецепторів ЦНС (ЦБДР) та TSPO рецепторів синтезованих сполук.

Ключові слова: 1-гідразінокарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-они, реакція Кневенагеля, гідразіноліз, афінитет, бензодіазепінові та TSPO рецептори.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Бензодіазепіни – широкий клас лікарських засобів, без яких не можна уявити сучасну медицину. Широке застосування 1,4-бензодіазепінів пов'язане з їх фармакологічними властивостями – анксиолітичними, снодійними, седативними та ін. [1, 2].

Раніше вважалося, що всі ефекти бензодіазепінів реалізуються через систему головного медіатора гальмування центральної нервової системи (ЦНС) – γ-аміномасляну кислоту (ГАМК). Однак в подальшому були відкриті «периферичні» місця зв'язування бензодіазепінів, поза ГАМК_A-рецепторним комплексом – це периферичні бензодіазепінові рецептори (ПБДР), які за сучасною номенклатурою називають TSPO рецепторами. TSPO рецептори мають іншу структурно-функціональну організацію [3, 4]. TSPO рецептори переважно локалізовані на зовнішніх мембранах мітохондрій та беруть безпосередню участь у їх дихальних функціях [3-5].

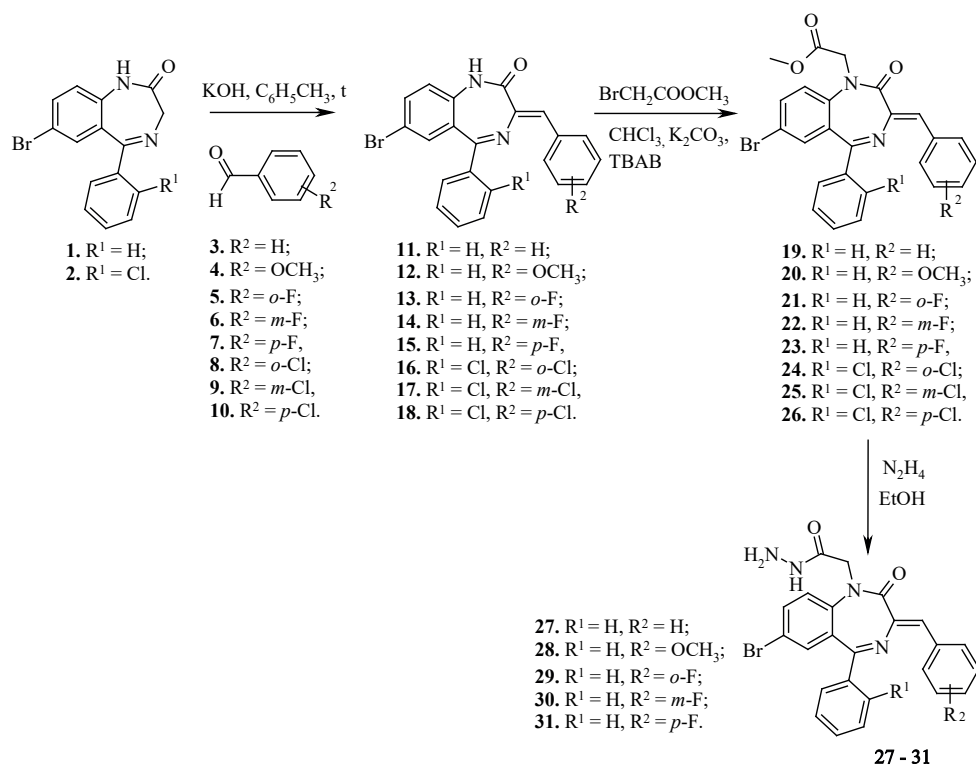
Ці два типи рецепторів, відрізняючись за структурно-функціональною організацією, опосередковують ряд одних й тих самих фармакологічних відповідей – анксиолітичну, ноотропну, стрес-протекторну, анорексигенну та ін. [3-7]. В останні роки з'явилося багато даних, що підтверджують участь TSPO рецепторів у патогенезі ішемічної хвороби серця і мозку, злоякісних новоутворень, нейродегенеративних захворювань [4, 6-8].

У цей час пошук і створення нових високоафінних та селективних лігандів ЦБДР та TSPO рецепторів є важливим напрямком сучасної медичної хімії та фар-

макології і становить інтерес не тільки для фундаментальних досліджень ліганд-рецепторних взаємодій, але й для створення нових лікарських препаратів.

В роботі описано синтез і досліджено афінитет до центральних бензодіазепінових рецепторів ЦНС (ЦБДР) та TSPO рецепторів ЦНС нових 1-гідразінокарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів **27-31** (табл.1).

Синтез та властивості 3-ариліден-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів **11-18** були описані раніше в роботах [9-11]. Синтез відбувався в умовах модифікованої реакції Кневенагеля. Реакція відбувалася при кип'ятінні 1,4-бензодіазепін-2-онів **1-2** з ароматичними альдегідами **3-10** в толуолі в присутності каталітичних кількостей КОН. Виходи продуктів **11-18** становили 60-90%.



Синтез та властивості 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів **19-26** були описані раніше в роботі [12]. Реакція відбувалася в умовах методики, що була описана в роботах [13, 14], взаємодією 3-ариліден-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів **11-18** з метиловим естером монобромової кислоти при перемішуванні компонентів в двофазній системі хлороформ – насичений водний розчин карбонату калію з використанням каталізатору межфазового переносу тетрабутиламоній броміду (ТБАБ). Виходи продуктів реакції **19-26** становили 73-92%.

Гідразіноліз естерної групи з отриманням 1-гідразинокарбонілметил-3-ариліден-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів **27-31** відбувався в умовах методики описаної в роботах [14 - 16]. Сполуки були отримані в результаті реакції 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів **27-31** з гідразингідратом при перемішуванні компонентів в етиловому спирті при кімнатній температурі. Виходи продуктів реакції становили 65-92% (табл. 1).

Всі спроби синтезу 1-гідразинокарбонілметил-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів де R¹ = Cl не призвели до очікуваного результату, не дивлячись на підбор умов реакції (температури, заміну розчинників та концентрації реагентів). Реакція, або не протікала, або відбувалося осмолення реакційної суміші.

Таблиця 1

Властивості 1-гідразинокарбонілметил-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів (27 – 31)

Table 1

Properties 1-hydrazinocarbonylmethyl-3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones (27 – 31)

№	R ¹	R ²	Бруто-формула	Вихід, %	T _{пл.} , °C	Колір	Інгібування зв'язування (I, %)*	
							ЦБДР	TSPO
27	H	H	C ₂₄ H ₁₉ BrN ₄ O ₂	77	219-220 (EtOH)	жовт.	80,1 ± 6,8	7,0 ± 1,0
28	H	4-OCH ₃	C ₂₅ H ₂₁ BrN ₄ O ₃	92	165-167 (EtOH)	жовт.	18,1 ± 2,0	2,0 ± 0,4
29	H	2-F	C ₂₄ H ₁₈ BrFN ₄ O ₂	65	165-170 (EtOH)	жовт.	6,1 ± 0,8	13,2 ± 1,0
30	H	3-F	C ₂₄ H ₁₈ BrFN ₄ O ₂	67	200-201 (EtOH)	жовт.	16,9 ± 1,7	13,1 ± 1,0
31	H	4-F	C ₂₄ H ₁₈ BrFN ₄ O ₂	70	152-156 (EtOH)	жовт.	13,9 ± 1,6	28,0 ± 2,2

*I, % – величини інгібування специфічного зв'язування радіолігандів [³H]флумазенілу з ЦБДР та [³H]PK 11195 з TSPO рецепторами ЦНС в концентрації 1 · 10⁻⁶ М досліджуваними сполуками

Будову сполук підтверджено методами мас-спектрометрії та спектроскопії ¹H-ЯМР (табл. 2).

В спектрах ¹H-ЯМР сполук **27-31** (табл. 2) присутні сигнали усіх типів протонів: мультиплет ароматичних протонів в області 6.90-7.84 м.ч., синглет С-Н протона у С=СН зв'язку в 3-му положенні діазепінового циклу в області 6.42-6.71 м.ч., СН₂ групи дублет в області 4.58-4.63 м.ч., NH-групи в області 7.87-7.92 м.ч., NH₂ групи в області 2.88-3.99 м.ч., Положення сигналів протонів *p*-ОСН₃ групи в спектрі ¹H-ЯМР, δ, м.ч. для сполуки **28**: уш. с (3H) 3.82 м.ч.

В мас-спектрах сполук **27 - 31** (табл. 2) присутні піки очікуваних молекулярних іонів. Будову сполук **27, 29-31** підтверджено методом електронного удару, а будову сполуки **28**, підтверджено методом FAB спектрометрії.

Таблиця 2

Спектральні характеристики 1-гідразинокарбонілметил-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів (**27 - 31**)

Table 2

Spectral characteristics of 1-hydrazinocarbonylmethyl-3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones (**27 - 31**)

№	Мас-спектри, <i>m/z</i> (<i>I</i> _{відн.} %)	Спектри ¹ H-ЯМР (CDCl ₃), δ, м.ч., (<i>J</i> , Гц)		
		C=CH (1H,c)	H аром.	CH ₂ CONHNH ₂
27	476 (45), 445 (12), 417 (15), 389 (100), 375 (15)	6.48	7.28 м (2H), 7.37 м (2H), 7.51 м (6H), 7.87 м (3H).	3.98 уш.с. (2H, NH ₂); 4.19 д, 4.62 д (2H, CH ₂ , <i>J</i> =16); 7.92 уш. с. (1H, NH)
28	505 (42), 417 (20)	6.48	6.90 д (2H, <i>J</i> =8), 7.49 м (8H), 7.86 д (2H, <i>J</i> =8).	2,84 уш.с. (2H, NH ₂), 3.82 уш.с. (3H, OCH ₃), 4.19 д, 4.58 д (2H, CH ₂ , <i>J</i> =16); 8.15 уш. с. (1H, NH)
29	494 (90), 463 (27), 435 (20), 421 (5), 407 (100), 387 (5)	6.71	7.04 м (1H), 7.16 м (1H), 7.26 с (2H), 7.50 м (5H), 7.73 м (3H)	3.99 уш.с. (2H, NH ₂), 4.19 д, 4.63 д (2H, CH ₂ , <i>J</i> =16); 7.92 уш. с. (1H, NH)
30	494 (75), 463 (25), 435 (22), 407 (100)	6.42	6.98 м (1H), 7.26 м (3H), 7.52 м (6H), 7.85 м (2H)	3.99 уш.с. (2H, NH ₂), 4.18 д, 4.61 д (2H, CH ₂ , <i>J</i> =16); 7.87 уш. с. (1H, NH)
31	494 (80), 463 (25), 435 (20), 407 (100)	6.46	7.06 м (2H), 7.26 с (1H), 7.51 м (7H), 7.84 м (2H)	3.98 уш.с. (2H, NH ₂), 4.18 д, 4.61 д (2H, CH ₂ , <i>J</i> =16), 7.88 уш. с. (1H, NH)

Афінитет сполук **27-31** визначали *in vitro* методом радіолігандного аналізу за їх здатністю витіснити комерційні радіоліганди [³H] флумазеніл та [³H] РК11195 з місць їх специфічного зв'язування у ГАМК_A рецепторному комплексі та TSPO синаптичної та мітохондріальної фракції мембран головного мозку щурів, відповідно. Методики опубліковані в роботі [17].

Сполука **27**, молекулу якої піддавали структурної модифікації, що містить незаміщений 3-бензиліденовий фрагмент, виявляє відносно високий афінитет до ЦБДР рецепторів. Ця сполука інгібує зв'язування радіоліганду [³H]флумазенілу на 80,1% (Таблиця 1), та одночасно проявляє дуже низький афінитет до TSPO рецепторів. Сполуку **27** можна охарактеризувати, як сполуку, що селективно зв'язується з ЦБДР та представляє інтерес для подальших фармакологічних досліджень.

Сполука **28**, що містить 3-метоксибензиліденовий замісник не проявила значної активності, як до ЦБДР, так і до TSPO рецепторів.

Сполуки **29** та **30**, у яких введено атом фтору в *орто*- та *мета*-положення бензиліденового фрагменту, практично однаково інгібують зв'язування радіоліганду

[H³]PK11195, тобто на 6,2% та 6,1% більше, порівняно зі сполукою **27**. Але введення атому фтору у *para*-положення 3-бензиліденового фрагменту (сполука **31**) призводить до більш значного зростання (на 21%) інгібування зв'язування до TSPO рецепторів.

Сполуки **29**, **30** та **31**, які містять 3-фторбензиліденовий фрагмент, проявляють досить невисокий афінитет до ЦБДР та інгібують зв'язування радіоліганду на 6,1%, 16,9% та 13,9%, відповідно, що значно менше, ніж для незаміщеного похідного **27**. Серед фторзаміщених найбільш активна до ЦБДР є сполука **30**, що містить 3-*meta*-фторзаміщений замісник.

Отримані нами результати узгоджуються з наявними у літературі даними про позитивний вплив замісників у *para*-положенні 3-бензиліденового радикалу молекули 1,4-бензодіазепін-2-ону на афінитет до TSPO-рецепторів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Контроль за ходом реакції і чистотою отриманих сполук відбувався методом ТШХ на пластинках “Silufol UV-254” в системі метанол-хлороформ, 1:10 з проявленням в УФ-світлі ($\lambda = 254$ нм).

Спектри ЯМР ¹H реєстрували для ~2% розчинів сполук в CDCl₃ і в DMSO-d₆ на приладі Bruker (400 МГц), внутрішній стандарт ТМС.

Мас-спектри сполук отримані методом електронного удару на мас-спектрометрі MX-1321, іонізуюча напруга 70 еВ, температура камери іонізації 220°C і методом FAB-спектрометрії на мас-спектрометрі “7070-EQ, VG Analytical”, енергія пучка аргону 8 КеВ, матриця – *m*-нітробензиловий спирт.

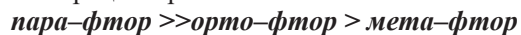
1-Гідразинокарбонілметил-3-метоксибензиліден-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-он (28). В колбі змішують 1.0 г (2.1 ммоль) 1-метоксикарбонілметил-3-бензиліден-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-ону (**20**), 10 мл етанолу і 0.5 мл (10 ммоль) гідразин-гідрату. Реакційну суміш перемішують на магнітній мішалці при кімнатній температурі. Контроль за ходом реакції відбувається методом ТШХ по зменшенню кількості вихідного бензодіазепіну. Реакція протікає впродовж 24 год. Етанольний розчин виливають в сміську з крижаною водою і залишають на ніч. Осад, що випав, відфільтровують, промивають водою, сушать і кристалізують з етанолу. Вихід продукту **28** 0.92 г (92%). T_{пл.} 165-167 °C.

Сполуки (**27**, **29** – **31**) синтезовані в аналогічних умовах (табл. 1).

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що у синтезованій низці сполук селективною та найбільш афінною до ЦБДР є сполука **27**, що містить в сьомому положенні атом бром, в п'ятому положенні фенільний замісник і не містить замісників у 3-ариліденовому фрагменті. Досліджена сполука може бути використана в подальших фармакологічних дослідженнях.

2. Встановлено, що *para*-положення атому фтору у 3-бензиліденовому радикалі молекули 1,4-бензодіазепін-2-ону є найбільш важливим дескриптором, що визначає їх афінитет до TSPO рецепторів:



Ці дані збігаються з наявними у літературі даними про вплив положення атомів хлору і броду у 3-бензиліденовому радикалі молекули 1,4-бензодіазепін-2-ону на афінитет до TSPO рецепторів ЦНС [9]. Виявлено, що основним структурним фрагментом, що визначає тропність зв'язування 3-бензиліден-похідних з TSPO рецепторами є наявність у *пара*-положенні бензиліденового фрагменту електро-негативних замісників:

***пара-Hal* >> *орто-Hal* > *мета-Hal* (афінитет до TSPO)
(Hal = Br, F)**

Таким чином, показана доцільність подальшого дослідження цього класу сполук.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Barnard E.A., Skolnick P., Olsen R.W., Mohler H., Sieghart W., Biggio G., Braestrup C., Bateson A.N. and Langer S.Z. International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of γ -Aminobutyric Acid_A Receptors: Classification on the Basis of Subunit Structure and Receptor Function // Pharmacol. Rev. – 1998. – Vol. 50, N2. – P. 291–314. <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>.
2. Андронаті С.А., Макан С.Ю. Структурно-конформаційні фактори розпознавання бензодіазепиновими рецепторами їх лігандів // Укр. хім. журн. – 1999. – Т. 65, № 9–10. – С. 5–17.
3. 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/j.tips.2006.06.005>
4. 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/edrv-14-2-222>
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. Hardwick M., Fertikh D., Culty A., H. Li, B. Vidic, V. Papadopoulos. Peripheral-type benzodiazepine receptor (PBR) in human breast cancer: correlation of breast cancer cell aggressive phenotype with PBR expression, nuclear localization, and PBR-mediated cell proliferation and nuclear transport of cholesterol // Cancer Res. – 1999. – Vol. 59. – P. 831–842.
7. Gavish M., Bachman I., Shoukrun R., Katz Y., Veenman L., Weisinger G., Weizman A. Enigma of the peripheral benzodiazepine receptor // Pharmacol. Rev. – 1999. – Vol. 51. – P. 629–650.
8. Gavish M., Katz Y., Bar-Ami S., Weizman R. Biochemical, physiological, and pathological aspects of the peripheral benzodiazepine receptor // J. Neurochem. – 1992. – Vol. 58. – P. 1589–1601.
9. Павловський В.І., Бачинський С.Ю., Ткачук Н.А., Макан С.Ю., Андронаті С.А., Симонов Ю.А., Филіппова І.Г., Гданець М. Синтез, структура і афінитет к бензодіазепиновим рецепторам ЦНС 3-ариліден(гетариліден)-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онов // ХГС. – 2007. – № 8. – С. 1213–1225.
10. Андронаті С.А., Кабанова Т.А., Павловський В.І., Андронаті К.С., Бачинський С.Ю. Ліганди брадикинінових рецепторів як потенціальні анальгетическіє і протівовоспалительніє средства // ЖОФХ. – 2009. – Т. 7, № 4 (28). – С. 70–76.
11. Андронаті С.А., Кабанова Т.А., Павловський В.І., Карасева Т.Л., Халімова Е.І., Бачинський С.Ю. Синтез і анальгетическая активність *цис*-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онов // Одеський медичний журнал – 2011. – Т. 01, № 123. – С. 17–21.
12. Бачинський С.Ю., Халімова Е.І., Кабанова Т.А., Андронаті С.А. Синтез нових 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онов // Вісник ОНУ. Хімія. – 2019. – Т. 24, № 4(72), – С. 45–51. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2019.4\(72\).185528](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2019.4(72).185528)
13. Пат. 41726 Україна, МПК (2009) C07C 225/00, C07C 221/00. Спосіб аміноалкілування дифенолів та біс-гідроксидифенілів / О.С. Карпенко, С.А. Ляхов, Г.В. Мальцев; – № u200813065. Заявл. 10.11.2008; Опубл. 10.06.2009; Бюл. № 11.
14. Пат. RU2133248 C1, МПК C07D243/24, A61K31/55. Производные 1,4-бензодіазепіна, обладающие селективной анксиолитической активностью. С.Б. Середенин, Ю.А. Бледнов, С.А. Андронаті, В.І. Павловський, А.С. Яворський; – № 95112132/04. Заявл. 12.07.1995; Опубл. 20.07.1999.

15. Андронати С. А., Яворский А. С., Жилина З. И., Якубовская Л. Н., Чепелев В. М., Пятин Б. М., Щербакова О. В., Арыстанова Т. П., Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г., Жук О. В., Станкевич Е. А., Жердев В. П., Колыванов Г. Б., Лыганов С. И., Воронина Т. А., Неробкова Л. Н., Богданов Н. Н., Маркина Н. В., Гарибова Т. Л., Калинина Т. С., Воронин К. Э., Середенин С. Б., Бледнов Ю. А., Дурнев А. Д., Гордей М. Л., Козловская М. М., Рахманкулова И. Х., Белозерцев Ю. А., Григорьева Н. Д., Руденко Л. П., Молодавкин Г. М., Рамхин Е. Я., Любимов Б. И., Смольникова Н. М., Сорокина А. В., Коваленко Л. П., Музыченко А. П., Незнамов Г. Г., Лыгалов С. И., Бочкарев В. К., Колыванов Г. Б., Жариков Н. М., Морозов И. С., Барчуков В. Г., Жирнов Е. Н., Иванец Н. Н., Купервас И. П., Стародубцев А. К., Хайретдинов Н. Б., Гончаров К. О., Скибицкий В. В., Битенский В. С., Савостин А. П., Андронати И. С. Гидазепам. – К.: Наукова думка, 1992. – 6–14 с.
16. А.с. 1099575 СССР, МПК C07D243/26. Способ получения 1-(гидразінокарбонил)-метил-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онов. А. В. Богатский, С. А. Андронати, А. В. Вальман, Т. А. Воронина, Л. Н. Якубовская А. С. Яворский, З. И. Жилина, Т. Л. Гарибова, М. М. Козловская, Н. М. Смольникова, С. В. Меринова и О. В. Кобзарёва – № 3493557/04. Заявл. 22.09.82; Опубл. 07.05.91; Бюл. № 17.
17. *Andronati S., Semenishyna E., Pavlovsky V., Simonov Y., Makan S., Boyko I., Burenkova N., Gdaniec M., Cardinael P., Bouillon J.-P., Mazepa A.* Synthesis, structure and affinity of novel 3-alkoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones for CNS central and peripheral benzodiazepine receptors // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 45. – P. 1346–1351. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.027>

Стаття надійшла до редакції 22.07.2023

S. Yu. Bachinsky¹, N. O. Burenkova¹, S. A. Andronati¹, Yu. V. Ishkov²

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

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

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF NEW 1-HYDRAZINOCARBONYLMETHYL-7-BROMO-5-PHENYL-3- ARYLYDENE-1,2-DIHYDRO-3H-1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONES

It is known that 1,4-benzodiazepines have neurotropic properties. Previously, we synthesized a series of 3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones 11-18 and showed that they exhibit significant analgesic activity. They also show significant affinity for central benzodiazepine receptors and TSPO receptors CNS. With this in mind, we have previously modified the series of 3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones by alkylation of 3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones with monobromoacetic acid methyl ester to the first position of the 1,4-diazepine ring to obtain 1-methoxycarbonylmethyl-7-bromo-5-phenyl-3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones 19-26, which showed pronounced analgesic activity.

The aim of this work is to synthesize and study the affinity for CBR and TSPO receptors 1-hydrazinocarbonylmethyl-7-bromo-5-phenyl-3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones 27–31, which have not been previously described in the literature. Compounds 27-31 were synthesized as a result of the reaction of 1-methoxycarbonylmethyl-7-bromo-5-phenyl-3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones 19-26 with hydrazine hydrate while stirring the components in ethanol. The yields of the reaction products were 65-92%. It was shown that the hydrazinolysis technique used provides high yields of the target compounds. The structure of the synthesized compounds was confirmed by mass spectrometry and ¹H NMR spectroscopy.

The affinity of the synthesized compounds to the central benzodiazepine receptors CNS (CBR)

and TSPO receptors CNS was studied. The affinity of compounds **27–31** was determined *in vitro* by radioligand analysis by their ability to displace the commercial radioligands [³H] flumazenil and [³H]PK11195 from their specific binding sites in the GABA_A receptor complex and TSPO receptors of the synaptic and the mitochondrial fractions of the rat brain membranes, respectively.

Compound **27** displaces the commercial [³H]flumazenil radioligand from its specific binding sites in the GABA_A receptor complex by 80.1%, and simultaneously exhibits a very low affinity for TSPO receptors. Derivative **27** is the most potent CBR ligand among the investigated compounds and it is a promising compound for pharmacological research.

It has been established that in the synthesized series of 3-fluorobenzylidene derivatives, varying the position of the fluorine atom in the benzylidene fragment leads to change affinity for TSPO receptors. It has been established that the *para*- position of the fluorine atom in the 3-benzylidene radical of the 1,4-benzodiazepin-2-one molecule is the most important descriptor that determines their affinity for the TSPO receptors.

These data agree with the data available in the literature on the effect of the position of chlorine and bromine atoms in the 3-benzylidene radical of the 1,4-benzodiazepin-2-one molecule on the affinity for the TSPO receptors. It was found that the main structural fragment that determines the affinity of binding of 3-benzylidene derivatives to TSPO receptors is the presence of electronegative substituents in the *para*-position of the benzylidene fragment:

para-Hal* >> *ortho-Hal* > *meta-Hal (affinity for TSPO)

(*Hal* = Br, F)

Thus, the expediency of further study of this class of compounds is shown.

Keywords: 1-hydrazinocarbonylmethyl-7-bromo-5-phenyl-3-arylidene-1,2-dihydro-3*H*-1,4-benzodiazepin-2-ones, Knevenagel reaction, hydrazinolysis, affinity, benzodiazepine and TSPO receptors.

REFERENCES

1. Barnard E.A., Skolnick P., Olsen R.W., Mohler H., Sieghart W., Biggio G., Braestrup C., Bateson A.N. and Langer S.Z. *International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of γ -Aminobutyric Acid_A Receptors: Classification on the Basis of Subunit Structure and Receptor Function*. Pharmacol. Rev., 1998, vol. 50, no 2, pp. 291-314. <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>.
2. Andronati S.A., Makan S.Yu. *Strukturno-konformacionnye faktory raspoznavaniya benzodiazepinovymi receptorami ih ligandov*. Ukr. Chem. J. 1999. vol. 65, no 9-10, pp. 5-17. (in Russian)
3. 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/j.tips.2006.06.005>
4. 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/edrv-14-2-222>
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. Hardwick M., Fertikh D., Culty A., H.Li, Vidic B., Papadopoulos V. *Peripheral-type benzodiazepine receptor (PBR) in human breast cancer: correlation of breast cancer cell aggressive phenotype with PBR expression, nuclear localization, and PBR-mediated cell proliferation and nuclear transport of cholesterol*. Cancer Res., 1999, vol. 59, pp. 831-842.
7. Gavish M., Bachman I., Shoukrun R., Katz Y., Veenman L., Weisinger G., Weizman A. *Enigma of the peripheral benzodiazepine receptor*. Pharmacol. Rev., 1999. vol. 51, pp. 629-650.
8. Gavish M., Katz Y., Bar-Ami S., Weizman R. *Biochemical, physiological, and pathological aspects of the peripheral benzodiazepine receptor*. J. Neurochem., 1992, vol. 58, pp. 1589-1601.

9. Pavlovsky V.I., Bachinskii S.Yu., Tkachuk N.A., Makan S.Yu., Andronati S.A., Simonov Yu.A., Filippova I.G., Gdaniec M. *Synthesis and structure of 3-arylidene and 3-hetarylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones and their affinity toward CNS benzodiazepine receptors*. Chem. Heterocycl. Comp., 2007, vol. 43, no 8, pp. 1029-1037. <https://doi.org/10.1007/s10593-007-0161-3>.
10. Andronati S.A., Kabanova T.A., Pavlovskij V.I., Andronati K.S., Bachinskij S.Yu. *Bradykinin receptor ligands as potential analgesic and anti-inflammatory agents*. J. Org. Pharm. Chem., 2009, vol. 7, no 4 (28), pp. 70-76.
11. Andronati S.A., Kabanova T.A., Pavlovskij V.I., Karaseva T.L., Khalimova E.I., Bachinskij S.Yu. *Sintez i analgeticheskaia aktivnost' cis-3-ariliden-1,2-dihidro-3H-1,4-benzodiazepin-2-onov*. Odes'kij med. žurn., 2011, vol. 01, no 1 (123), pp. 17-21. (in Russian)
12. Bachinsky S.Yu., Halimova E.I., Kabanova T.A., Andronati S.A. *Synthesis of novel 1-methoxycarbonylmethyl-7-bromo-5-phenyl-3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones*. Odesa National University Herald. Chemistry, 2019, vol. 24, no 4(72), pp. 45-51. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2019.4\(72\).185528](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2019.4(72).185528) (in Russian).
13. Maltsev H.V., Karpenko O.S., Liakhov S.A. *Process for the aminoalkylation of diphenols and bis-hydroxy diphenols sposib-aminoalkiluvannya-difenoliv-ta-bis-gidroksidifeniliv*. Patent UA, no 41726, publ. 10.06.2009. (in Ukrainian)
14. Seredenin S.B., Blednov Yu.A., Andronati S.A., Pavlovskii V.I., Yavorskii A.S. *1,4-Benzodiazepine derivatives showing selective anxiolytic activity*. Patent RF, no 2133248 C1, publ. 20.07.1999. (in Russian)
15. Andronati S.A., Javorskij A.S., Zhilina Z.I., Jakubovskaja L.N., Chepelev V.M., Pjatin B.M., Shherbakova O.V., Arystanova T.P., Golovenko N.Ja., Zin'kovskij V.G., Zhuk O.V., Stankevich E.A., Zherdev V.P., Kolyvanov G.B., Lyganov S.I., Voronina T.A., Nerobkova L.N., Bogdanov N.N., Markina N.V., Garibova T.L., Kalinina T.S., Voronin K.Je., Seredenin S.B., Blednov Ju.A., Durnev A.D., Gordej M.L., Kozlovskaja M.M., Rahmankulova I.H., Belozercev Ju.A., Grigor'eva N.D., Rudenko L.P., Molodavkin G.M., Ramhin E.Ja., Ljubimov B.I., Smol'nikova N.M., Sorokina A.V., Kovalenko L.P., Muzychenko A.P., Neznamov G.G., Lygalov S.I., Bochkarev V.K., Kolyvanov G.B., Zharikov N.M., Morozov I.S., Barchukov V.G., Zhirnov E.N., Ivanec N.N., Kipervas I.P., Starodubcev A.K., Hajretidinov N.B., Goncharov K.O., Skibickij V.V., Bitenskij V.S., Savostin A.P., Andronati I.S. *Gidazepam*. Kyiv, Naukova dumka, 1992, 6 p. (in Russian)
16. Bogatsky A.V., Andronati S.A., Valman A.V., Voronina T.A., Yakubovskaya L.N., Yavorskii A.S., Zhilina Z.I., Garibova T.L., Kozlovskaya M.M., Smolnikova N.M., Merinova S.V. and Kobzareva O.V. *Method for the preparation of 1-(hydrazinocarbonyl)-methyl-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones*. Patent USSR, no 1099575 A1, publ. 07.05.1991. (in Russian)
17. Andronati S., Semenishyna E., Pavlovsky V., Simonov Y., Makan S., Boyko I., Burenkova N., Gdaniec M., Cardinael P., Bouillon J.-P., Mazepa A. *Synthesis, structure and affinity of novel 3-alkoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones for CNS central and peripheral benzodiazepine receptors*. Eur. J. Med. Chem., 2010, vol. 45, pp. 1346-1351.