

УДК 547.892:615.214.22

Н. О. Буренкова, С. Ю. БачинськийФізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України,
Люстдорфська дорога, 86, м.Одеса, 65080, Україна; e-mail:bachinskysergey@gmail.com**АФІНІТЕТ НОВИХ ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІГАНДІВ ГАМК_A-
РЕЦЕПТОРНОГО КОМПЛЕКСУ ТА TSPO РЕЦЕПТОРІВ
ЦНС – *цис*-3-АРИЛІДЕН-7-БРОМ-5-АРИЛ-1,2-ДИГІДРО-3*H*-1,4-
БЕНЗОДІАЗЕПІН-2-ОНІВ**

З метою вивчення зв'язку структура-афінитет лігандів ГАМК_A-рецепторного комплексу (ГАМК_AP) та TSPO рецепторів ЦНС синтезовано ряд нових *цис*-3-ариліден-7-бром-5-арил-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів (**3–11**). Методом радіолігандного аналізу в експериментах *in vitro* вивчено афінитет синтезованих сполук до ГАМК_AP та TSPO рецепторів ЦНС.

Ключові слова: 3-ариліден-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-они, афінитет, бензодіазепіни, ГАМК_A-рецепторний комплекс (ГАМК_AP), периферичні бензодіазепінові рецептори (ПБДР), центральні бензодіазепінові рецептори (ЦБДР), TSPO рецептори.

Основною мішенню дії 1,4-бензодіазепін-2-онів є ГАМК_A рецептори (ГАМК_AP). ГАМК_A рецептори є частиною глікопротеїнового гетеропентамерного ГАМК_A-хлоріонофорного каналу, розташованого на постсинаптичній мембрані нейронів [1]. Іонотропні ГАМК_A-рецептори входять до суперсемеїства Cys-петельних ліганд-керованих каналів [2], яке включає також нікотинові ацетилхолінові рецептори [3], гліцинові рецептори [4], цинк-активовані іонні канали [5] і серотонінові 5-HT₃ рецептори [6]. Всі ці ліганд-керовані іонні канали є пентамерами і складаються з п'яти ідентичних субодиниць (гомомерів), або п'яти різних субодиниць (гетеромерів) [7, 8].

Агоністи ГАМК_A-рецепторів мають виражений анксиолітичний, протисудомний, снодійний, міорелаксантий та інші види дії [1].

Спочатку одним із підтипів ГАМК_A-рецепторів вважали периферичні бензодіазепінові рецептори (ПБДР), проте пізніше вони були виділені в окремий клас рецепторів, завдяки їх унікальній структурі, клітинній локалізації та опосередкованим фізіологічним функціям [9–11]. ПБДР мають іншу структурно-функціональну організацію, тому у 2006 році з урахуванням нових досліджень їх структури і молекулярних функцій було вирішено назвати ці рецептори – TSPO рецептори (Translocator protein receptor) [12].

TSPO рецептори широко поширені в органах і тканинах організму (включаючи ЦНС) людини і тварин, і залучені в регуляцію багатьох фізіологічних процесів у нормі та при патології. TSPO рецептори це 5-трансмембранні 169-амінокислотні поліпептиди з молекулярною масою 18 кДа, які локалізуються переважно на зовнішній мітохондріальній мембрані периферичних тканин та гліальних клітин ЦНС [9–12].

TSPO рецептори асоційовані з різними біологічними функціями організму людини та тварин, включаючи біосинтез гема, транспорт холестерину та порфірину,

мітохондріальне окиснення, апоптоз, проліферацію клітин, імуномодуляцію, стероїдогенез та інші [9–12].

Однією з найбільш добре вивчених функцій TSPO рецепторів є їхня участь у біосинтезі стероїдів та нейростероїдів. TSPO рецептори опосередковують доставку холестерину на внутрішню мембрану мітохондрій, де він окиснюється цитохромом P450_{scc} (scc – side chain cleavage) до прегненолону – початкової сполуки ендogenous стероїдів [10–16]. Деякі нейростероїди: pregnenolone sulfate, 3 α -hydroxy-5 α -pregnan-20-one (3 α ,5 α -THPROG), 3 α ,21-dihydroxy-5 α -pregnan-20-one (3 α ,5 α -THDOC), і dehydroepiandrosterone, відомі як модулятори ГАМК- та глутаматергічної нейротрансмісії [12, 15–17].

У ряді робіт було показано, що ліганди TSPO рецепторів збільшують *in vivo* рівень нейростероїдів у передньому мозку та гіпокампу щурів, що супроводжується проявом антиконфліктних та анксиолітичних властивостей, які не виявляються у присутності антагоніста ГАМК_AР флумазенілу [18–21]. Більшість авторів вважає, що в основі нейрохімічного механізму прояву такої дії лежить здатність нейростероїдів викликати позитивну модуляцію ГАМК_A рецепторного комплексу [22].

Сучасні дослідження свідчать, що такі нейропатологічні стани, як розсіяний склероз, стрес, епілепсія, хвороби Альцгеймера та Хантінгтона, травми мозку, асоційовані з експресією TSPO рецепторів [9, 11, 15, 23–25].

У деяких лініях новоутворень спостерігається дуже високе селективне збільшення щільності TSPO рецепторів порівняно з нетрансформованою тканиною [26, 27]. У деяких випадках експресія TSPO рецепторів корелює зі ступенем злоякісності пухлини та смертністю пацієнтів [27, 28]. TSPO рецептори – нова внутрішньоклітинна мішень дії [29]. Ліганди TSPO рецепторів розглядають як діагностичні радіологічні засоби [30], і рецепторно-індуковані переносники ліків (receptor-mediated drug carriers) [31, 32], які можуть селективно доставляти протипухлинні засоби [33, 34].

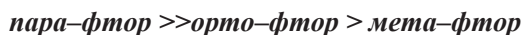
Ліганди TSPO рецепторів є перспективними лікарськими засобами для діагностики та лікування різноманітних патологій та можуть допомогти у встановленні як патогенетичних основ розвитку психоневрологічних та онкологічних захворювань, так і фундаментальних механізмів ліганд-рецепторної взаємодії.

Відомі ліганди TSPO рецепторів різних хімічних класів: 1,4-бензодіазепіни, ізохінолінкарбоксаміди, індолацетаміди, імідазопіридини, N-феноксифеніл-N-ізопропоксибензилацетаміди, піролобензтіазепіни, піролобензоксазепіни піразолопіримідини, феноксифенілацетаміди і деякі інші [35].

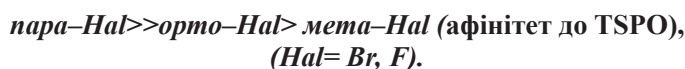
Раніше в дослідженні [36] нами було показано, що деякі 3-ариліден-7-бром-5-(2'-хлор)феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-они є селективними лігандами TSPO рецепторів. Серед них особливий інтерес викликає селективний ліганд TSPO рецепторів 3-(4'-хлорариліден)-7-бром-5-(2'-хлор)феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-он (**9**). Наявність у *para*-положенні 3-ариліденового фрагмента атома хлору або броміду відіграє важливу роль у прояві афінитету та селективності до TSPO рецепторів, порівняно з ГАМК_AР [36].

В дослідженні [37] нами було показано, що сполука 1-гідразинокarbonілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-он селективно та афінно зв'язується з ГАМК_AР. Також в дослідженні [37] нами було

встановлено, що *para*-положення атома 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 даними у дослідженні [36], де нами було встановлено, що основним структурним фрагментом, що визначає тропність зв'язування 3-бензиліденпохідних з TSPO рецепторами є наявність у *para*-положенні бензиліденового фрагменту електронегативних замісників:

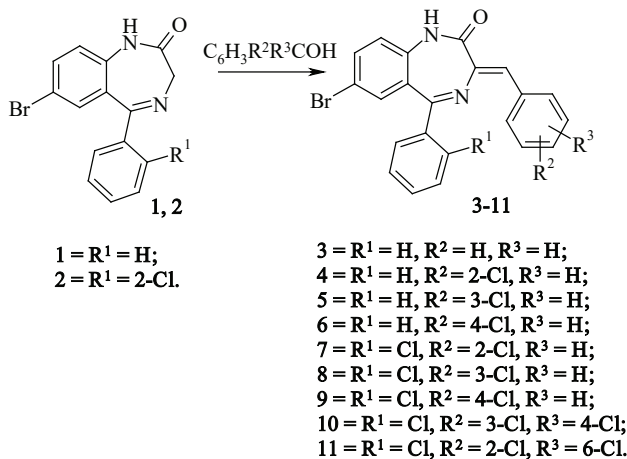


Дане дослідження представляє собою продовження досліджень [36, 37], направлене на вивчення впливу положення атома хлору в у 3-бензиліденовому радикалі похідних *cis*-3-ариліден-7-бром-5-арил-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів (**3–11**) на афінитет до ГАМК_AР та TSPO рецепторів ЦНС головного мозку щурів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Сполуки **3–11** синтезовані за схемою наведеною нижче. Синтез та властивості сполук **3–11** описані раніше [36].

Конденсацією 1,4-бензодіазепін-2-онів (**1**, **2**) з ароматичними альдегідами в умовах, описаних в роботі [36] були отримані сполуки **3–11**. Хід реакцій та чистоту отриманих сполук контролювали методом ТШХ.



Схема

Синтез *cis*-3-ариліден-7-бром-5-арил-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів

Scheme

Synthesis of *cis*-3-arylidene-7-bromo-5-aryl-1,2-dihydro-3*H*-1,4-benzodiazepine-2-ones

Афінитет сполук **3–11** до ГАМК_AР та TSPO рецепторів ЦНС визначали *in vitro* методом радіолігандного аналізу та оцінювали за здатністю досліджуваних сполук конкурентно витіснити радіоліганди: [³H]флумазеніл і [³H]РК11195 з місць їх специфічного зв'язування з ГАМК_AР та TSPO рецепторів синаптосомальної та мітохондріальної фракцій мембран головного мозку щурів, відповідно. Дані радіолігандного аналізу наведено у табл. 1.

Як впливає з експериментальних даних, представлених у таблиці, базова сполука 7-бром-5-феніл-3-бензиліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-он (**3**) виявляє невисокий афінитет до обох типів рецепторів. Ця сполука в концентрації $1 \cdot 10^{-6}$ М інгібує специфічне зв'язування радіолігандів [³H]флумазенілу та [³H]РК11195 з ГАМК_AР та TSPO рецепторами та на 61,9% та 37,2%, відповідно (табл. 1) [36].

Згідно з даними літератури [40–42], важливою умовою високого афінитету похідних 1,4-бензодіазепін-2-онів до ГАМК_AР є наявність у положенні 5 ароматичного (феніл, *о*-галогенфеніл) або гетероароматичного (піридил та ін.) замісника. Заміщення в *орто*-положенні є важливим, невеликі електроноакцепторні замісники (наприклад, F і Cl) мають позитивний вплив, в той час як введення замісників у *мета*- і *пара*-положення призводить до зниження афінитету до ГАМК_AР.

Як впливає з експериментальних даних, представлених у таблиці, наявність атома хлору в *орто*-положення 5-фенільного радикалу молекули 7-бром-5-феніл-3-(2'-хлорариліден)-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-ону (**4**) призводить до отримання більш афінної до ГАМК_AР сполуки (**7**), здатність до пригнічення специфічного зв'язування радіоліганду з ГАМК_AР збільшується при цьому на 30,3%. Така ж тенденція збільшення афінитету до ГАМК_AР спостерігається для пари сполук (**5** і **8**) (69,1%). Для сполук, що містять *пара*-хлорариліденовий фрагмент **6** та **9**, заміна фенільного на *орто*-хлорфенільний радикал призводить до зниження афінитету до ГАМК_AР на 34,9% (рис. 1).

Слід зазначити, що введення атома хлору в *орто*-положення 5-фенільного радикалу молекули 3-ариліден-1,4-бензодіазепін-2-ону впливає на афінитет до TSPO рецепторів, про що свідчить підвищення величини % інгібування специфічного зв'язування радіоліганду [³H]РК 11195 з TSPO рецепторами на 32,9% (**4** та **7**), на 16,9% (**5** та **8**), і незначне зниження – на 3,7% (**6** та **9**) (рис. 2).

Варіювання положення атома хлору в 3-ариліденовому фрагменті молекули 7-бром-5-(2'-хлорфеніл)-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-ону дозволило встановити наступну тенденцію зміни афінитету цих сполук до ГАМК_AР та TSPO рецепторів ЦНС. Сполуки, що містять у 3-му положенні бензодіазепінового циклу *пара*-хлорариліденовий замісник (**9**), активніше зв'язуються з TSPO рецепторами ЦНС, порівняно з *орто*- і *мета*-хлорарилідензаміщеними похідними (рис. 3).

Встановлено, що найбільш активні сполуки **6** і **9**, що містять *пара*-хлорариліденовий замісник в третьому положенні діазепінового циклу, мають величини інгібування (I,%) $78.2 \pm 7.6\%$ та $74.5 \pm 8.0\%$, відповідно. Для сполуки **9** визначено афінитет, $K_i = 245,5$ нМ.

У випадку сполук, афінних до ГАМК_AР, спостерігається інша картина: більш високу спорідненість виявляє сполука, що містить *мета*-хлорариліденовий за-

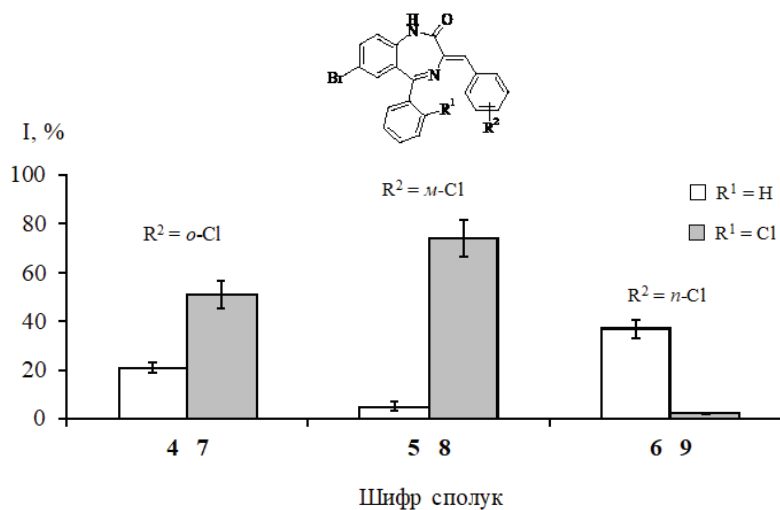


Рис. 1. Зміна афінитету до ГАМК_A рецепторів ЦНС *орто*-, *мета*-, *пара*-ізомерів 3-хлорариліденпохідних 7-бром-5-арил-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-ону

Fig. 1. Change of affinity for the GABA_A receptors of the CNS *ortho*-, *meta*-, *para*-isomers of 3-chloroarylidene derivatives of 7-bromo-5-aryl-1,2-dihydro-1,4-benzodiazepin-2-one

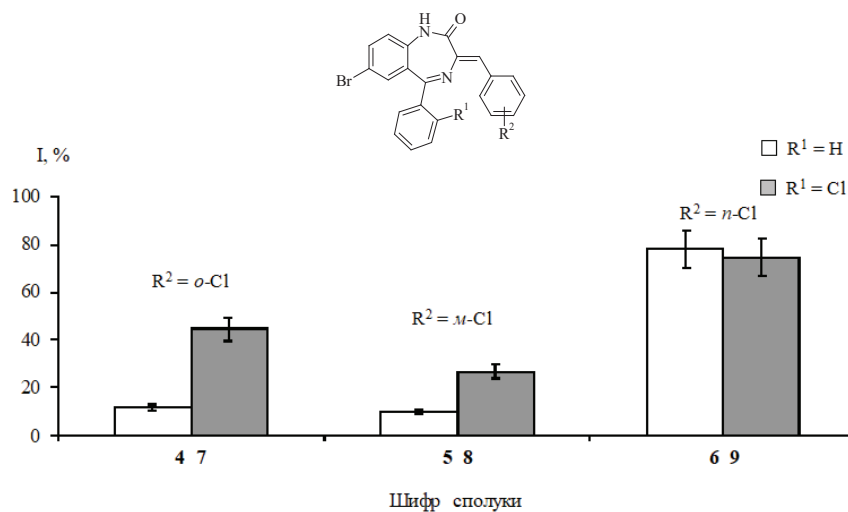


Рис. 2. Зміна афінитету до TSPO рецепторів ЦНС *орто*-, *мета*- і *пара*-ізомерів 3-хлорариліденпохідних 7-бром-5-арил-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-ону

Fig. 2. Change of affinity for the TSPO CNS receptors of *ortho*-, *meta*- and *para*-isomers of 3-chloroarylidene derivatives of 7-bromo-5-aryl-1,2-dihydro-1,4-benzodiazepin-2-one

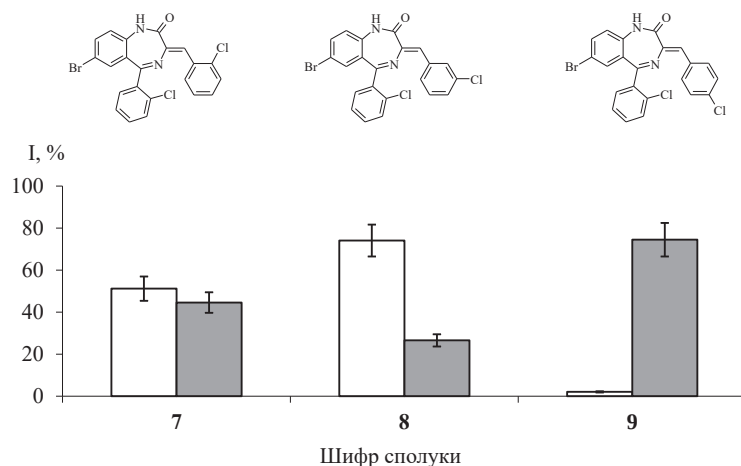


Рис. 3. Вплив положення атома хлору в 3-ариліденовому фрагменті похідних 7-бром-5-(2'-хлорфеніл)-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-ону на афінитет і селективність до ГАМК_A Р (□) та TSPO (■) рецепторів ЦНС

Fig. 3. Effect of the position of the chlorine atom in the 3-arylidene fragment of 7-bromo-5-(2'-chlorophenyl)-1,2-dihydro-1,4-benzodiazepin-2-one derivatives on the affinity and selectivity for GABA_A R (□) and TSPO (■) receptors of the CNS

місник у 3-му положенні молекули 7-бром-5-(*орто*-хлор)феніл-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-ону (**8**).

Встановлено, що дихлорариліденові похідні **10**, **11** значно відрізняються за афінитетом до ГАМК_A Р і TSPO рецепторів. Так, сполука **11**, що містить 2,6-дихлорариліденовий замісник, неселективно зв'язується з двома типами рецепторів зі значеннями % інгібування 56,2% і 60,1%, відповідно. В той же час, інше дихлорариліденове похідне **10**, що містить 3,4-дихлорариліденовий замісник, селективно зв'язується з TSPO рецепторами ЦНС (табл.).

Таким чином, можна відзначити, що в ряді досліджених 5-феніл- і 5-*орто*-хлорфеніл-3-ариліден-7-бром-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-онів простежуються наступні тенденції впливу положення атома хлору в ариліденовому фрагменті на афінитет до ГАМК_A Р та TSPO рецепторів:

мета – Cl >> орто – Cl > пара – Cl (афінитет до ГАМК_A Р)
пара – Cl >> орто – Cl > мета – Cl (афінитет до TSPO).

Найбільш висока здатність утворювати комплекс ліганд-рецептор (ГАМК_A Р) виявлена у сполук **8** та **10**. Сполуки **8** і **10** в концентрації $1 \cdot 10^{-6}$ М активно конкурують з комерційним радіолігандом за місця його специфічного зв'язування з ГАМК_A Р. Ці сполуки пригнічують специфічне зв'язування [³H]флумазенілу з ГАМК_A Р на 74,1% та 76,0%, відповідно. Ця група сполук характеризується низьким афінитетом до TSPO рецепторів.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Контроль за ходом реакції та чистотою отриманих сполук здійснювали методом ТШХ на платівках “Silufol UV-254” у системі метанол: хлороформ (1:10), прояв в УФ-світлі ($\lambda = 254$ нм).

Сpektри ЯМР ^1H реєстрували для ~2% розчинів сполук CDCl_3 і $\text{DMSO } d_6$ на приладі Bruker (400 МГц), внутрішній стандарт TMS.

Мас-спектри сполук отримані методом електронного удару на мас-спектрометрі «7070-EQ, VG Analytical», іонізуюча напруга 70 еВ, температура камери іонізації 220 °С.

Цис-7-бром-5-феніл-3-(4-хлорбензиліден)-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-он (6).

Суміш 2 г (0.0064 моль) 7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-она **1**, 1.4 г (0.01 моль) *n*-хлорбензальдегіду, 0.2 г (0.0036 моль) гідроксиду калію та 15 мл бензолу кип'ятять протягом 24 годин. Контроль над перебігом реакції здійснюють методом ТШХ. Гарячу реакційну суміш фільтрують і упарюють у вакуумі насуху. Твердий залишок розчиняють у хлороформі і тричі промивають водою для видалення залишків луку. Далі хлороформ сушать над Na_2SO_4 , фільтрують і упарюють насуху. Сухий залишок кристалізують з етилового спирту. Вихід сполуки **6** становить 1.96 г (70%).

Аналогічно отримують сполуки **3–5**, **7–11**.

Вивчення афінитету до ГАМК_AР та TSPO рецепторів ЦНС

Усі експерименти на тваринах виконані відповідно до вимог експериментального протоколу з гуманного ставлення до тварин European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

Експерименти були проведені на білих безпородних щурах-самцях масою 180–220г, що утримувалися в стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та їжі. Попередньо анестезованих тварин декапітували, швидко на холоді виїмали кору головного мозку (cortex). Експеримент з радіолігандного зв'язування проводили з використанням синаптичної фракції мембран головного мозку щурів, отриманої аналогічно [43], і мітохондріальної фракції мембран головного мозку щурів, отриманої аналогічно [44].

Афінитет синтезованих сполук до TSPO ЦНС визначали методом радіолігандного аналізу *in vitro*. У якості радіоліганда використовували антагоніст ГАМК_AР [^3H]флумазеніл (3219 ТБк/моль, “PerkinElmer”) та антагоніст TSPO рецепторів [^3H]PK 11195 (2775 ТБк/моль, “Du Pont NEN”).

Аналіз взаємодії сполук **3–11** з ГАМК_AР та TSPO рецепторів проводили згідно з описаними раніше методиками [45, 46]. Афінитет оцінювали за здатністю сполук у концентрації 1 мкМ витіснити радіоліганди з місць їх специфічного зв'язування з рецепторами. Для найбільш активних сполук були визначені значення величин IC_{50} (концентрація, в якій сполука, що досліджується, на 50% інгібує специфічне зв'язування радіоліганду з рецептором).

Для визначення величини IC_{50} використовували 8 концентрацій в інтервалі 0,1 нМ – 10 мкМ. Кожну експериментальну точку було отримано в секстетах. Дані представлені як $M \pm m$, де M – середнє значення трьох незалежних експериментів, m – стандартна помилка середнього значення.

Розрахунок величин IC_{50} проводили лінеаризацією S-подібної кривої в координатах Клотца. Розрахунок константи інгібування K_i проводили за формулою Ченга-Прусоффа [47].

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[L]}{K_d}}$$

$[L]$ – початкова концентрація радіоліганду;

K_d – константа дисоціації радіоліганду.

ВИСНОВКИ

1. Методом радіолігандного аналізу в експериментах *in vitro* вивчено афінитет нових *цис*-3-ариліден-7-бром-5-арил-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів до ГАМК_AP і TSPO рецепторів ЦНС. Отримані дані дозволяють зробити висновок, що природа і положення замісників у 3-ариліденовому фрагменті 3-ариліден-7-бром-5-арил-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-онів, є важливим дескриптором, що визначає їх афінитет як до ГАМК_AP, так і до TSPO рецепторів ЦНС.

2. Порівняльний аналіз афінитету сполук, що містять 5-фенільний та 5-*орто*-хлорфенільний замісники, свідчить, що наявність 5-*орто*-хлорфенільного радикалу в молекулі *цис*-7-бром-3-ариліден-1,2-дигідро-1,4-бензодіазепін-2-ону сприяє кращому розпізнаванню його бензодіазепіновими рецепторами ЦНС.

3. Встановлено, що основним структурним фрагментом, що визначає тропність зв'язування 3-ариліденпохідних з TSPO рецепторами є наявність у *пара*-положенні бензиліденового фрагменту електронегативного замісника, що сходиться з відомими у літературі даними:

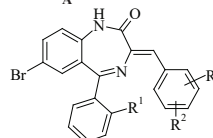
***пара*–Hal >> *орто*–Hal > *мета*–Hal (афінитет до TSPO),
(Hal= Br, F, Cl).**

Таблиця

**3-Ариліден-7-бром-5-арил-1,2-дигідро-3H-1,4-бензодіазепін-2-они (3–11)
та їх афінитет до ГАМК_A Р та TSPO рецепторів ЦНС**

Table

**3-Arylidene-7-bromo-5-aryl-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-one (3–11)
and their affinity for GABA_A R and TSPO receptors of the CNS**



№	R ¹	R ²	R ³	Афінитет I,%** (K _i , нМ)	
				ГАМК _A Р	TSPO
3	H	H	H	61.9±5.1	37.2±3.4
4	H	2-Cl	H	20.9±2.0	11.7±1.4
5	H	3-Cl	H	5.0±1.7	9.7±1.1
6	H	4-Cl	H	37.0±3.9	78.2±7.6
7	Cl	2-Cl	H	51.2±5.8	44.6±4.9
8	Cl	3-Cl	H	74.1±7.6	26.6±2.9
9	Cl	4-Cl	H	2.1±0.3	74.5±8.0 (245.5±21.0)
10	Cl	3-Cl	4-Cl	76.0±8.1	2.8±0.3
11	Cl	2-Cl	6-Cl	56.2±5.7	60.1±6.3

I,%** – Інгібування сполуками **3–11** у концентрації 1 мкМ специфічного зв'язування [³H] флумазенілу з ГАМК_A Р та [³H]PK11195 з TSPO рецепторами синаптосомальної та мітохондріальної фракції мембран кори головного мозку щурів, відповідно (%%).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Barnard E.A., Skolnick P., Olsen R.W., Mohler H., W. Sieghart, Biggio G., Braestrup C., Bateson A.N., 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(2). – P. 291–313. <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>
2. Jensen M.L., Schousboe A., Ahring P.K. Charge selectivity of the Cys-loop family of ligand gated ion channels // J. Neurochem.– 2005. – Vol. 92, N2. – P. 217–225. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02883.x>
3. Corringer P.J., Nove`re N.L., Changeux J. P. Nicotinic receptors at the amino acid level // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.– 2000. – Vol. 40. – P. 431–458. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.431>
4. Breiteringer H.G., Becker C.M. The inhibitory glycine receptor-simple views of a complicated channel // Chembiochem.– 2002. – Vol. 3. – P. 1042–1053. [https://doi.org/10.1002/1439-7633\(20021104\)3:11%3C1042::aid-cbic1042%3E3.0.co;2-7](https://doi.org/10.1002/1439-7633(20021104)3:11%3C1042::aid-cbic1042%3E3.0.co;2-7)
5. Davies P.A., Wang W., Hales T.G., Kirkness E. F. A novel class of ligand-gated ion channel is activated by Zn²⁺ // J. Biol. Chem.– 2003. – Vol. 278. – P. 712–717. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208814200>
6. Thompson A.J., Lummis S. C.R. 5-HT₃ receptors // Curr. Pharm. Des.– 2006. – Vol. 12. – P. 3615–3630. <https://doi.org/10.2174/138161206778522029>

7. Raftery M.A., Hunkapiller M.W., Strader C.D., Hood L.E. Acetylcholine receptor: complex of homologous subunits // *Sci.*– 1980. – Vol. 208. – P. 1454–1456. <https://doi.org/10.1126/science.7384786>
8. Nayeem N., Green T.P., Martin I.L., Barnard E.A. Acetylcholine receptor: complex of homologous subunits // *J. Neurochem.*– 1994. – Vol. 62. – P. 815–818. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77390-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77390-X)
9. 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. [https://doi.org/10.1016/S0031-6997\(24\)01424-8](https://doi.org/10.1016/S0031-6997(24)01424-8)
10. Casellas P., Galiegue S., Basile A.S. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function // *Neurochem. Int.*– 2002. – Vol. 40. – P. 475–468. [https://doi.org/10.1016/S0197-0186\(01\)00118-8](https://doi.org/10.1016/S0197-0186(01)00118-8)
11. Moshe Gavish, Leo Veenman *Adv. Regulation of Mitochondrial, Cellular, and Organismal Functions by TSPO* // *Pharmacol.*– 2018. – Vol. 82. – P. 103–136. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.09.004>
12. 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 Pharmacol. Sci.*– 2006. – Vol. 27, N8. – P. 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.06.005>
13. 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. – P. 569–585. [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(03\)00101-6](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(03)00101-6)
14. Veenman L., Papadopoulos V., Gavish M. Channel-Like Functions of the 18-kDa Translocator Protein (TSPO): Regulation of Apoptosis and Steroidogenesis as Part of the Host-Defense Response // *Curr. Pharm. Des.*– 2007. – Vol. 13. – P. 2385–2405. <http://dx.doi.org/10.2174/138161207781368710>
15. Jamin N., Neumann J.-M., Ostuni M.A., Ngoc-Vu T.K., 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 // *Mol. Endocrinol.*– 2005. – 19. – P. 588–594. <http://dx.doi.org/10.1210/me.2004-0308>
16. Papadopoulos V., Lecanu L., Brown R.C., Han Z., Yao Z.-X. Peripheral-type benzodiazepine receptor in neurosteroid biosynthesis, neuropathology and neurological disorders // *Neurosci.*– 2006. – Vol. 138. – P. 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.05.063>
17. Wu F., Gibbs T. T., Farb D. H. Pregnenolone Sulfate: A Positive Allosteric Modulator at the N-Methyl-D-aspartate Receptor // *Mol. Pharmacol.*– 1991. – Vol. 40. – P. 333–336. [https://doi.org/10.1016/S0026-895X\(25\)12923-4](https://doi.org/10.1016/S0026-895X(25)12923-4)
18. Korneyev A., Pan B. S., Polo A., Romeo E., Guidotti A., Costa E. Stimulation of brain pregnenolone synthesis by mitochondrial diazepam binding inhibitor receptor ligands *in vivo* // *J. Neurochem.*– 1993. – Vol. 61. – P. 1515–1524. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb13647.x>
19. Costa E., Auta J., Guidotti A., Korneyev A., Romeo E. The pharmacology of neurosteroidogenesis // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*– 1994. – Vol. 49. – P. 385–389. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(94\)90284-4](https://doi.org/10.1016/0960-0760(94)90284-4)
20. Trapani G., Laquintana V., Denora N., Trapani A., Lopodota A., Latrofa A., Franco M., Serra M., Giuseppina M. P., Floris I., Sanna E., Biggio G., Liso G. Structure-activity relationships and effects on neuroactive steroid synthesis in a series of 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridineacetamide peripheral benzodiazepine receptors ligands // *J. Med. Chem.*– 2005. – Vol. 48. – P. 292–305. <http://dx.doi.org/10.1021/jm049610q>
21. 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 // *Psychopharm. (Berl.)*– 2000. – Vol. 151. – P. 64–71. <https://doi.org/10.1007/s002130000471>
22. Barichello T., Simoes L. R., Collodel A., Giridharan V. V., Dal-Pizzol F., Macedo D., Quevedo J. The translocator protein (18 kDa) and its role in neuropsychiatric disorders // *Neurosci. Biobehavioral Rev.*– 2017. – Vol. 83. – P. 183–199. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.10.010>
23. Hazell A.S., Normandin L., Nguyen B., Kennedy G. Upregulation of 'peripheral-type' benzodiazepine receptors in the globus pallidus in a sub-acute rat model of manganese neurotoxicity // *Neurosci. Lett.*– 2003. – Vol. 349. – P. 13–16. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(03\)00649-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(03)00649-9)
24. Meßmer K., Reynolds G. P. Increased peripheral benzodiazepine binding sites in the brain of patients with Huntington's disease // *Neurosci. Lett.*– 1998. – Vol. 241. – P. 53–56. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(97\)00967-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(97)00967-1)
25. Banati R.B., Newcombe J., Gunn R.N., Cagnin A., Turkheimer F., Heppner F., Prince G. The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis. Quantitative *in vivo* imaging of glia of microglia as a measure of disease activity // *Brain.*– 2000. – Vol. 123. – P. 2321–2337. <https://doi.org/10.1093/brain/123.11.2321>
26. Katz Y., Eitan A., Gavish M. Increase in peripheral benzodiazepine binding sites in colonic adenocarcinoma // *Oncology.*– 1990. – Vol. 47. – P. 139–142. <https://doi.org/10.1159/000226806>

27. Veenman L., Levin E., Weisinger G., Leschiner S., Spanier I., Snyder S.H., Weizman A., Gavish M. Peripheral-type benzodiazepine receptor density and *in vitro* tumorigenicity of glioma cell lines // *Biochem. Pharmacol.*— 2004. — Vol. 68. — P. 689–698. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.05.011>
28. Hardwick M., Fertikh D., Culty M., Li H., 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. — P. 831–842.
29. Weissman B.A., Raveh L. Peripheral benzodiazepine receptors: on mice and human brain imaging // *J. Neurochem.*— 2003. — Vol. 84. — P. 432–437. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01568.x>
30. Zhang M.-R., Maeda J., Ogawa M., Noguchi J., Ito T., Yoshida Y., Okauchi T., Obayashi S., Suhara T., Suzuki K. Development of a New Radioligand, N-(5-Fluoro-2-phenoxyphenyl)-N-(2-[¹⁸F]fluoroethyl-5-methoxybenzyl)acetamide, for PET Imaging of Peripheral Benzodiazepine Receptor in Primate Brain // *J. Med. Chem.*— 2004. — Vol. 47. — P. 2228–2235. <https://doi.org/10.1021/jm0304919>
31. Margiotta N., Ostuni R., Ranaldo R., Denora N., Laquintana V., Trapani G., Liso G., Natile G. Synthesis and characterization of a platinum (II) complex tethered to a ligand of the peripheral benzodiazepine receptor // *J. Med. Chem.*— 2007. — Vol. 50. — P. 1019–1027. <https://doi.org/10.1021/jm0612160>
32. Guo P., Ma J., Li S., Guo Z., Adams A.L., Gallo J.M. Targeted delivery of a peripheral benzodiazepine receptor ligand-gemcitabine conjugate to brain tumors in a xenograft model // *Cancer Chemother. Pharmacol.*— 2001. — Vol. 48. — P. 169–176. <https://doi.org/10.1007/s002800100284>
33. Kupczyk-Subotkowaka L., Siahaan T.J., Basile A., Friedman H.S., Higgins P.E., Song D., Gallo J.M. Modulation of Melphalan Resistance in Glioma Cells with a Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand-Melphalan Conjugate // *J. Med. Chem.*— 1997. — Vol. 40. — P. 1726–1730. <https://doi.org/10.1021/jm960592p>
34. Trapani G., Laquintana V., Latrofa A., Ma J., Reed K., Serra M., Biggio G., Liso G., Gallo J.M. Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand-Melphalan Conjugates for Potential Selective Drug Delivery to Brain Tumors // *Bioconjugate Chem.*— 2003. — Vol. 14. — P. 830–839. <https://doi.org/10.1021/bc034023p>
35. James M., Selleri S., Kassiou M. Development of Ligands for the Peripheral Benzodiazepine Receptor // *Curr. Med. Chem.*— 2006. — Vol. 13. — P. 1991–2001. <https://doi.org/10.2174/092986706777584979>
36. Павловський В.І., Бачинський С.Ю., Ткачук Н.А., Макан С.Ю., Андронати С.А., Симонов Ю.А., Филіппова І.Г., Гданець М. Синтез, структура і афінитет к бенздіазепіновим рецепторам ЦНС 3-ариліден(гетариліден)-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-онів // *Хімія гетероц. соедин.*— 2007. — № 8. — С. 1213–1225. <https://doi.org/10.1007/7423>
37. Бачинський С.Ю., Буренкова Н.О., Андронати С.А., Ішков Ю.В. Синтез та властивості нових 1-гідразінокарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариліден-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-онів // *Вісник ОНУ. Хімія.*— 2023. — Т. 28, № 2(85). — С. 43–51. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2023.2\(85\).286601](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2023.2(85).286601)
38. Пат. RU2133248 C1, МПК C07D243/24, A61K31/55. Производные 1,4-бензодиазепина, обладающие селективной анксиолитической активностью. С.Б. Середенин, Ю.А. Бледнов, С.А. Андронати, В.И. Павловский, А.С. Яворский; — № 95112132/04. Заявл. 12.07.1995; Опубл. 20.07.1999.
39. Пат. 41726 Україна, МПК (2009) C07C 225/00, C07C 221/00. Спосіб аміноалкілювання дифенолів та біс-гідроксидифенілів / О.С. Карпенко, С.А. Ляхов, Г.В. Мальцев; — № u200813065. Заявл. 10.11.2008; Опубл. 10.06.2009; Бюл. № 11.
40. He X., Zhang C., Cook J.M. Model of the BzR binding site: correlation of data from site-directed mutagenesis and the pharmacophore/receptor model // *Med. Chem. Res.*— 2001. — Vol. 10. — P. 269–308.
41. Андронати С.А., Чепелев В.М., Якубовская Л.Н., Вальдман А.В., Воронина Т.А., Рожанец В.В., Жудин В.В., Коротков К.О. Связь между структурой, родством к бенздиазепиновому рецептору и свойствами 5-галогенофенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-онів // *Биорг. химия.*— 1983. — Т. 9, № 10. — С. 1357–1361.
42. Андронати С.А., Воронина Т.А. Успехи химии и фармакологии бенздиазепинов (обзор) // Изд. "Зинатне", Рига. Сб. "Целенаправленный поиск новых нейротропных препаратов".— 1983. — С. 94–109.
43. Dekermendjian K., Kahnberg P., Witt M.-R., Stierner O., Nielsen M., Liljefors T. Structure-Activity Relationships and Molecular Modeling Analysis of Flavonoids Binding to the Benzodiazepine Site of the Rat Brain GABA_A Receptor Complex // *J. Med. Chem.*— 1999. — Vol. 42. — P. 4343–4350. <https://doi.org/10.1021/jm991010h>
44. 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 // *J. Med. Chem.*— 1996. — Vol. 39. — P. 4275–4284. <https://doi.org/10.1021/jm960325j>
45. Макан С.Ю., Буренкова Н.А., Костенко Е.А., Андронати С.А., Битенский В.С. Афінитет к бенздіазепіновим рецепторам ЦНС і нейротропні властивості нових 3-ариліден(гетариліден)производных 1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепина-2-она // *Вісн. психіатрії та психофармакотер.*— 2007. — Т. 2, № 12. — С. 118–122.

46. Бойко И.А., Макан С.Ю., Смольский С.П., Андронати С.А. Исследование аффинитета к бензодиазепиновым сайтам ГАМК_A рецепторов ЦНС и функциональной активности потенциального гипнотика – цинацепама // Вісник ОНУ. Хімія.– 2005. – Т. 10, № 1. – С. 49–57.
47. Cheng Y.C., Prusoff W.H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50% inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction // Biochem. Pharmacol.– 1973. – Vol. 2. – P. 3099–3108. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(73\)90196-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(73)90196-2)

Стаття надійшла до редакції 12.05.2025

N.O. Burenkova, S. Yu. Bachinsky

A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NAS of Ukraine,
86 Liustdorfka Rd, Odesa, 65080, Ukraine; e-mail: bachinskysergey@gmail.com

AFFINITY OF NEW POTENTIAL LIGANDS OF THE GABA_A - RECEPTOR COMPLEX AND TSPO RECEPTORS OF THE CNS – *cis*-3-ARYLIDENE-7-BROMO-5-ARYL-1,2-DIHYDRO-3H-1,4- BENZODIAZEPIN-2-ONES

1,4-Benzodiazepines are chemical compounds with various neurotropic properties. Previously, we synthesized a series of 3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones and showed that some these compounds exhibit pronounced affinity for GABA_A receptors and TSPO receptors of the CNS. In this regard, we synthesized a series of new 3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones **3–11** for the purpose of further studying the affinity for GABA_A receptors and TSPO receptors of the CNS.

The aim of this work was to study the affinity of 3-arylidene-7-bromo-5-phenyl-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones **3–11** for GABA_A receptors and TSPO receptors, the synthesis and a number of pharmacological properties of which we have previously described. Compounds **3–11** were synthesized under Knoevenagel condensation conditions as a result of the reaction of 1,4-benzodiazepin-2-ones **1–2** with the corresponding aromatic aldehydes by boiling the components in toluene in the presence of catalytic amounts of dry potassium carbonate.

The affinity of the synthesized compounds for the GABA_A and TSPO receptors of the central nervous system was studied. The affinity of compounds **3–11** was determined *in vitro* by radioligand analysis based on their ability to displace commercial radioligands [³H]flumazenil and [³H]PK11195 from their specific binding sites in the GABA_A receptor complex and TSPO receptor complex of synaptic and mitochondrial fractions of rat brain membranes, respectively. It has been shown that the introduction of a chlorine atom into the *ortho* position of the 5-phenyl radical of the 7-bromo-5-phenyl-3-(2'-chloroarylidene)-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-one molecule (**4**) leads to the production of a compound (**7**) with a higher affinity for GABA_AR.

It was established that the compounds **6** and **9**, which contain a *para*-chloroarylidene substituent in the third position of the diazepine ring, have the highest affinity for GABA receptors and have inhibition values (I₅₀%) of 78.2±7.6% and 74.5±8.0%, respectively. For compound **9**, the affinity for the GABA receptor was determined, K_i = 245.5 nM.

It should be noted that the introduction of a chlorine atom into the *ortho*-position of the 5-phenyl radical of the 3-arylidene-1,4-benzodiazepin-2-one molecule affects the affinity for TSPO receptors, as evidenced by an increase in the % inhibition of specific binding of the radioligand [³H]PK 11195 for TSPO receptors.

It was established that in the series of 5-phenyl- and 5-*ortho*-chlorophenyl-3-arylidene-7-bromo-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones studied, the following patterns of influence of the position of the chlorine atom in the arylidene fragment on the affinity for GABA_AR and TSPO receptors can be traced:

***meta* – Cl >> *ortho* – Cl > *para* – Cl (affinity for GABA_AR)**

Summarizing the results of our long-term research, it was established that the main structural fragment that determines the binding tropism of 3-arylidene-1,4-benzodiazepin-2-ones with TSPO receptors is the presence of an electronegative substituent in the *para*-position of the benzyldiene fragment:

para –Hal>> *ortho* –Hal> *meta* –Hal (affinity for TSPO),
(Hal= Br, F, Cl)

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

Keywords: 3-arylidene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones, affinity, benzodiazepines, GABA_A receptor complex (GABA_AR), peripheral benzodiazepine receptors (PBDR), central benzodiazepine receptors (CBR), TSPO receptors.

REFERENCES

1. Barnard E.A., Skolnick P., Olsen R.W., Mohler H., W. Sieghart, Biggio G., Braestrup C., Bateson A.N., 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(2), pp. 291–313. <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>
2. Jensen M.L., Schousboe A., Ahring P.K. *Charge selectivity of the Cys-loop family of ligand gated ion channels*. J. Neurochem., 2005, vol. 92, pp. 217–225. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02883.x>
3. Corringer P.J., Nove' re N.L., Changeux J.P. *Nicotinic receptors at the amino acid level*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 2000, vol. 40, pp. 431–458. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.431>
4. Breitingier H.G., Becker C.M. *The inhibitory glycine receptor-simple views of a complicated channel*. Chembiochem., 2002, vol. 3, pp. 1042–1053. [https://doi.org/10.1002/1439-7633\(20021104\)3:11%3C1042::aid-cbic1042%3E3.0.co;2-7](https://doi.org/10.1002/1439-7633(20021104)3:11%3C1042::aid-cbic1042%3E3.0.co;2-7)
5. Davies P.A., Wang W., Hales T.G., Kirkness E.F. *A novel class of ligand-gated ion channel is activated by Zn²⁺*. J. Biol. Chem., 2003, vol. 278, pp. 712–717. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208814200>
6. Thompson A.J., Lummis S.C.R. *5-HT₃ receptors*. Curr. Pharm. Des., 2006, – vol. 12, pp. 3615–3630. <https://doi.org/10.2174/138161206778522029>
7. Raftery M.A., Hunkapiller M.W., Strader C.D., Hood L.E. *Acetylcholine receptor: complex of homologous subunits*. Sci., 1980, vol. 208, pp. 1454–1456. <https://doi.org/10.1126/science.7384786>
8. Nayeem N., Green T.P., Martin I.L., Barnard E.A. *Acetylcholine receptor: complex of homologous subunits*. J. Neurochem., 1994, vol. 62, pp. 815–818. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77390-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77390-X)
9. 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. [https://doi.org/10.1016/S0031-6997\(24\)01424-8](https://doi.org/10.1016/S0031-6997(24)01424-8)
10. Casellas P., Galiegue S., Basile A.S. *Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function*. Neurochem. Int., 2002, vol. 40, pp. 475–468. [https://doi.org/10.1016/S0197-0186\(01\)00118-8](https://doi.org/10.1016/S0197-0186(01)00118-8)
11. Moshe Gavish, Leo Veenman. *Regulation of Mitochondrial, Cellular, and Organismal Functions by TSPO*. Adv. Pharmacol., 2018, vol. 82, pp. 103–136. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.09.004>
12. 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 Pharmacol. Sci., 2006, vol. 27, no 8, pp. 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.06.005>
13. 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, pp. 569–585. [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(03\)00101-6](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(03)00101-6)
14. Veenman L., Papadopoulos V., Gavish M. *Channel-Like Functions of the 18-kDa Translocator Protein (TSPO): Regulation of Apoptosis and Steroidogenesis as Part of the Host-Defense Response*. Curr. Pharm. Des., 2007, vol. 13, pp. 2385–2405. <http://dx.doi.org/10.2174/138161207781368710>
15. Jamin N., Neumann J.-M., Ostuni M.A., Ngoc-Vu T.K., 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*. Mol. Endocrinol., 2005, vol. 19, pp. 588–594. <http://dx.doi.org/10.1210/me.2004-0308>
16. Papadopoulos V., Lecanu L., Brown R.C., Han Z., Yao Z.-X. *Peripheral-type benzodiazepine receptor in neurosteroid biosynthesis, neuropathology and neurological disorders*. Neurosci., 2006, vol. 138, pp. 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.05.063>

17. Wu F., Gibbs T. T., Farb D. H. *Pregnenolone Sulfate: A Positive Allosteric Modulator at the N-Methyl-D-aspartate Receptor*. Mol. Pharmacol., 1991, vol. 40, pp. 333–336. [https://doi.org/10.1016/S0026-895X\(25\)12923-4](https://doi.org/10.1016/S0026-895X(25)12923-4)
18. Korneyev A., Pan B. S., Polo A., Romeo E., Guidotti A., Costa E. *Stimulation of brain pregnenolone synthesis by mitochondrial diazepam binding inhibitor receptor ligands in vivo*. J. Neurochem., 1993, vol. 61, pp. 1515–1524. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb13647.x>
19. Costa E., Auta J., Guidotti A., Korneyev A., Romeo E. *The pharmacology of neurosteroidogenesis*. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol., 1994, vol. 49, pp. 385–389. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(94\)90284-4](https://doi.org/10.1016/0960-0760(94)90284-4)
20. Trapani G., Laquintana V., Denora N., Trapani A., Lopodota A., Latrofa A., Franco M., Serra M., Giuseppina M. P., Floris I., Sanna E., Biggio G., Liso G. *Structure-activity relationships and effects on neuroactive steroid synthesis in a series of 2-phenylimidazo[1,2-a]pyridineacetamide peripheral benzodiazepine receptors ligands*. J. Med. Chem., 2005, vol. 48, pp. 292–305. <http://dx.doi.org/10.1021/jm049610q>
21. 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*. Psychopharm. (Berl.), 2000, vol. 151, pp. 64–71. <https://doi.org/10.1007/s002130000471>
22. Barichello T., Simoes L. R., Collodel A., Giridharan V. V., Dal-Pizzol F., Macedo D., Quevedo J. *The translocator protein (18 kDa) and its role in neuropsychiatric disorders*. Neurosci. Biobehav. Rev., 2017, vol. 83, pp. 183–199. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.10.010>
23. Hazell A. S., Normandin L., Nguyen B., Kennedy G. *Upregulation of 'peripheral-type' benzodiazepine receptors in the globus pallidus in a sub-acute rat model of manganese neurotoxicity*. Neurosci. Lett., 2003, vol. 349, pp. 13–16. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(03\)00649-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(03)00649-9)
24. Mcßmer K., Reynolds G. P. *Increased peripheral benzodiazepine binding sites in the brain of patients with Huntington's disease*. Neurosci. Lett., 1998, vol. 241, pp. 53–56. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(97\)00967-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(97)00967-1)
25. Banati R. B., Newcombe J., Gunn R. N., Cagnin A., Turkheimer F., Heppner F., Prince G. *The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis. Quantitative in vivo imaging of glia of microglia as a measure of disease activity*. Brain., 2000, vol. 123, pp. 2321–2337. <https://doi.org/10.1093/brain/123.11.2321>
26. Katz Y., Eitan A., Gavish M. *Increase in peripheral benzodiazepine binding sites in colonic adenocarcinoma*. Oncology., 1990, vol. 47, pp. 139–142. <https://doi.org/10.1159/000226806>
27. Veenman L., Levin E., Weisinger G., Leschiner S., Spanier I., Snyder S. H., Weizman A., Gavish M. *Peripheral-type benzodiazepine receptor density and in vitro tumorigenicity of glioma cell lines*. Biochem. Pharmacol., 2004, vol. 68, pp. 689–698. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.05.011>
28. Hardwick M., Fertikh D., Culty M., Li H., 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.
29. Weissman B. A., Raveh L. *Peripheral benzodiazepine receptors: on mice and human brain imaging*. J. Neurochem., 2003, vol. 84, pp. 432–437. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01568.x>
30. Zhang M.-R., Maeda J., Ogawa M., Noguchi J., Ito T., Yoshida Y., Okauchi T., Obayashi S., Suhara T., Suzuki K. *Development of a New Radioligand, N-(5-Fluoro-2-phenoxyphenyl)-N-(2-[18F]fluoroethyl-5-methoxybenzyl)acetamide, for PET Imaging of Peripheral Benzodiazepine Receptor in Primate Brain*. J. Med. Chem., 2004, vol. 47, pp. 2228–2235. <https://doi.org/10.1021/jm0304919>
31. Margiotta N., Ostuni R., Rinaldo R., Denora N., Laquintana V., Trapani G., Liso G., Natile G. *Synthesis and characterization of a platinum (II) complex tethered to a ligand of the peripheral benzodiazepine receptor*. J. Med. Chem., 2007, vol. 50, pp. 1019–1027. <https://doi.org/10.1021/jm0612160>
32. Guo P., Ma J., Li S., Guo Z., Adams A. L., Gallo J. M. *Targeted delivery of a peripheral benzodiazepine receptor ligand-gemcitabine conjugate to brain tumors in a xenograft model*. Cancer Chemother. Pharmacol., 2001, vol. 48, pp. 169–176. <https://doi.org/10.1007/s002800100284>
33. Kupczyk-Subotkowaka L., Siahaan T. J., Basile A., Friedman H. S., Higgins P. E., Song D., Gallo J. M. *Modulation of Melphalan Resistance in Glioma Cells with a Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand-Melphalan Conjugate*. J. Med. Chem., 1997, vol. 40, pp. 1726–1730. <https://doi.org/10.1021/jm960592p>
34. Trapani G., Laquintana V., Latrofa A., Ma J., Reed K., Serra M., Biggio G., Liso G., Gallo J. M. *Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand-Melphalan Conjugates for Potential Selective Drug Delivery to Brain Tumors*. Bioconjugate Chem., 2003, vol. 14, pp. 830–839. <https://doi.org/10.1021/bc034023p>
35. James M., Selleri S., Kassiou M. *Development of Ligands for the Peripheral Benzodiazepine Receptor*. Curr. Med. Chem., 2006, vol. 13, pp. 1991–2001. <https://doi.org/10.2174/092986706777584979>
36. Pavlovsky V. I., Bachinskii S. Yu., Tkachuk N. A., Makan S. Yu., Andronati S. A., Simonov Yu. A., Filippova I. G., Gdaniec M. *Synthesis, structure and affinity of 3-aryliden(hetaryliden)-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-*

- ones for the CNS benzodiazepine receptors. Chem. Heterocycl. Compd., 2007, vol. 43, pp. 1029–1037. <https://doi.org/10.1007/s10593-007-0161-3>
37. Bachinsky S. Yu., Burenkova N.O., Andronati S.A., Ishkov Yu.V. *Synthesis and properties of new 1-hydrazinocarbonylmethyl-7-bromo-5-phenyl-3-arylydene-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones*. Visn. Odes. nac. univ., Him., 2023, vol. 28, no 2(85), pp. 43–51. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2023.2\(85\).286601](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2023.2(85).286601)
38. 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).
39. 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).
40. He X., Zhangand C., Cook J.M. *Model of the BzR binding site: correlation of data from site-directed mutagenesis and the pharmacophore/receptor model*. Med. Chem. Res., 2001, vol. 10, pp. 269–308.
41. Andronati S.A., Chepelev V.M., Yakubovskaya L.N., Valdman A.V., Voronina T.A., Rozhanets V.V., Zhudin V.V., Korotkov K. O. *Svyaz mezhdu strukturoi, srodstvom k benzodiazepinovomu retseptoru i svoistvami 5-galogenofenil-1,2-digidro-3H-1,4-benzodiazepin-2-onov*. Bioorganicheskaya khimiya., 1983, vol. 9, no 10, pp. 1357–1361. (in Russian)
42. Andronati S.A., Voronina T.A. *Uspekhi khimii i farmakologii benzodiazepinov (obzor)*. Sb. [Tselenapravlenii poisk novikh neirotropnikh preparatov]. Riga, Izd. "Zinatne", 1983, pp. 94–109. (in Russian)
43. Dekermendjian K., Kahnberg P., Witt M.-R., Sterner O., Nielsen M., Liljefors T. *Structure-Activity Relationships and Molecular Modeling Analysis of Flavonoids Binding to the Benzodiazepine Site of the Rat Brain GABA_A Receptor Complex*. J. Med. Chem., 1999, vol. 42, pp. 4343–4350. <https://doi.org/10.1021/jm991010h>
44. 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*. J. Med. Chem., 1996, vol. 39, pp. 4275–4284. <https://doi.org/10.1021/jm960325j>
45. Makan S. Yu., Burenkova N.A., Kostenko Ye.A., Andronati S.A., Bitenskii V.S. *Affinitet k benzodiazepinovim retseptoram TsNS i neirotropnie svoistva novikh 3-ariliden(getariliden)proizvodnikh 1,2-digidro-3H-1,4-benzodiazepina-2-ona*. Visnik psikiatrii ta psikhofarmakoterapii., 2007, vol. 2, no 12, pp. 118–122. (in Russian)
46. Boiko I.A., Makan S. Yu., Smulskii S.P., Andronati S.A. *Issledovanie affiniteta k benzodiazepinovim saitam GAMK_A retseptorov CNS i funktsionalnoi aktivnosti potentsialnogo gipnotika – tsinatsepama*. Visn. Odes. nac. univ., Him., 2005, vol. 10, no 1, pp. 49–57. (in Russian)
47. Cheng Y.C., Prusoff W.H. *Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50% inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction*. Biochem. Pharmacol., 1973, vol. 2, pp. 3099–3108. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(73\)90196-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(73)90196-2)