

УДК 615.31

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

DOI: 10.37903/vsgma.2020.4.7

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ 2-АРИЛ-6-(МЕТИЛТИО)-4-ХЛОР-2H-ПИРАЗОЛО [3,4-D]ПИРИМИДИНОВ© **Офицерова Е.С., Алексеева Л.Н., Шкляренко А.А., Яковлев И.П.***Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Россия, 197376, г.**Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14**Резюме*

Цель. Изучить биологической активности синтезированных новых 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2H-пиразоло[3,4-d]пиримидинов.

Методика. Прогноз вероятных видов биологической активности осуществляли с помощью компьютерной программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). Острую токсичность 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2H-пиразоло[3,4-d]пиримидинов определяли экспериментально на нелинейных белых мышах-самцах общей массой 16-20 г. Анальгезирующую активность устанавливали на модели уксуснокислых «корчей» у мышей.

Результаты. 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2H-пиразоло[3,4-d]пиримидины по классификации токсичности препаратов Сидорова К.К. отнесены к классу практически нетоксичных веществ (LD₅₀ >2000 мг/кг). Анальгезирующая активность у исследуемых соединений была выше препарата сравнения.

Заключение. Синтезированные новые 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2H-пиразоло[3,4-d]пиримидины нетоксичны и обладают выраженной анальгезирующей активностью.

Ключевые слова: 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2H-пиразоло[3,4-d]пиримидины, биологическая активность, острая токсичность, анальгезирующая активность

BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW 2-ARYL-6-(METHYLTHIO)-4-CHLORO-2H-PYRAZOLO [3,4-D] PYRIMIDINES

Ofitserova E.S., Alekseyeva L.N., Shklyarenko A.A., Yakovlev I.P.

*St. Petersburg State University of Chemical and Pharmaceuticals, 14, Prof. Popova St., 197376, St.-Petersburg, Russia**Abstract*

Objective. To study the biological activity of the synthesized new 2-aryl-6-(methylthio)-4-chloro-2H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines.

Methods. Probable types of biological activity were predicted using the PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) computer program. The acute toxicity of 2-aryl-6-(methylthio)-4-chloro-2H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines was determined experimentally on non-linear white male mice with a total weight of 16-20 g. Analgesic activity was established on a model of acetic acid «cramps» in mice.

Results. 2-aryl-6-(methylthio)-4-chloro-2H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines according to the classification of toxicity of drugs Sidorova K.K. assigned to the class of practically non-toxic substances (LD₅₀ > 2000 mg / kg). The analgesic activity of the test compounds was higher than the reference drug.

Conclusion. The synthesized new 2-aryl-6-(methylthio)-4-chloro-2H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines are non-toxic and have pronounced analgesic activity.

Keywords: 2-aryl-6-(methylthio)-4-chloro-2H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines, biological activity, acute toxicity, analgesic activity

Введение

Пиразолопиримидины представляют собой конденсированные гетероциклические системы, структурно напоминающие производные пуринов [6]. Простейшими представителями данного

класса соединений являются Аллопуринол и его метаболит Оксопуринол, активно применяемые в терапии гиперуремии [8]. Среди пиразолопиримидинов были выявлены вещества, проявляющие противовирусную [9], противомикробную [4], противовоспалительную [10] активности. В последние несколько десятилетий интерес к этим соединениям продолжает расти благодаря открытию их противоопухолевой активности [7]. В связи с чем, авторы приняли решение о поиске новых пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов и изучение их биологической активности.

Новые 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидины получают взаимодействием 4,6-дихлор-2*S*-замещенного-пиримидин-5-карбальдегида (I) с производными фенилгидразина гидрохлорида (II) в тетрагидрофуране [2] при нагревании и перемешивании в течение 6-10 ч. Реакционную массу разбавляют водой, перемешивают. Полученный осадок фильтруют и промывают небольшим количеством воды. Выход продуктов составил 60-92 % (рис.).

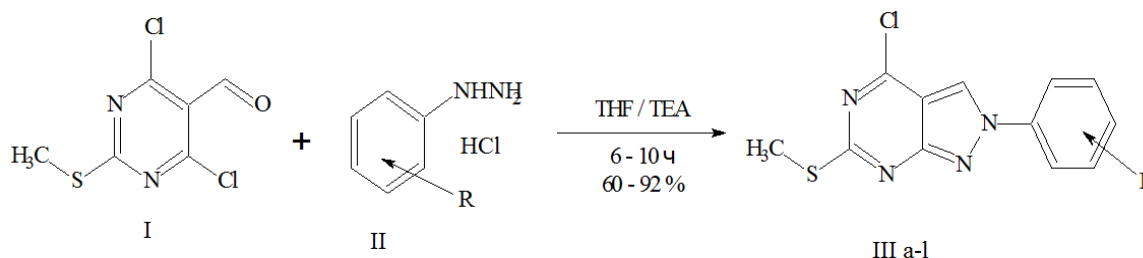


Рис. Синтез 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов III a-1

Строение полученных 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов доказано физико-химическими методами анализа: ЯМР ^1H , ^{13}C , ИК- спектроскопии и масс-спектроскопии.

На данный момент в литературе нет упоминания о биологической активности новых 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов, поэтому целью данной работы стало изучение биологической активности новых синтезируемых соединений.

Методика

На 1-м этапе исследования *in vivo* полученных соединений был осуществлен прогноз вероятных видов биологической активности с помощью компьютерной программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), используя веб-сервис <http://pharmaexpert.ru/passonline>.

Острую токсичность синтезированных 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов определяли на нелинейных белых мышах-самцах массой тела 16-20 г. Животных распределяли на равные части по численности и массе тела в группы, по 5 животных в каждой. 2-Арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидины вводили однократно, внутривентриально в интервале доз от 1 до 2000 мг/кг в виде суспензии в смеси ДМСО: вода (1:5) с использованием стабилизатора – твин-80. Выживаемость животных определяли через 24 и 48 ч от момента введения исследуемого соединения. Наблюдения осуществляли в течение 72 ч. Регистрировали развитие основных симптомов и время гибели животных. Расчет среднесмертельных доз LD_{50} веществ проводили с помощью экспресс-метода Прозоровского В.Б.[3] и пробит анализа по методу Миллера-Тейнтера [1].

Анальгезирующую активность 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов устанавливали на модели уксуснокислых «корчей» у мышей-самцов массой 16-20 г. Вещества вводили однократно внутривентриально в дозе 1/10 от LD_{50} , которая составляла 200 мг/кг. Препарат сравнения – метамизол натрия – вводили аналогично в дозе 25 мг/кг. Контрольные животные получали дистиллированную воду. Химическое раздражение вызывали внутривентриальным введением 3% раствора уксусной кислоты. Исследуемые соединения вводили за 40 мин до введения уксусной кислоты. Подчитывали количество корчей у каждой мыши в течение 20 мин.

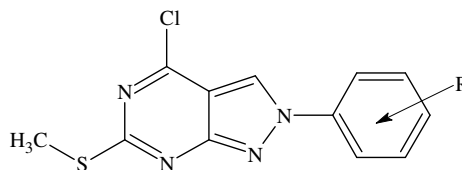
Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладной программы Microsoft Excel и экспресс-методом по Прозоровскому [3].

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты предварительного скрининга биологической активности, проведенные с помощью программы PASS, показали анальгезирующую активность с вероятностью P_a от 0,2 до 0,4. Дальнейшим этапом работы стало экспериментальное подтверждение данных видов активности.

В экспериментах была установлена острая токсичность при внутрибрюшинном введении. Для 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов LD_{50} составила 2000 мг/кг, поэтому соединения по классификации токсичности препаратов Сидорова К.К. были отнесены к классу практически нетоксичных веществ [5]. При подсчете количества корч у мышей при установлении анальгезирующей активности оказалось, что полученные 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидины приводят к уменьшению числа судорог у животных на 81-98 %, по сравнению с препаратом сравнения метамизолом натрия, активность которого составляет 61 % (табл.).

Таблица. Анальгезирующая активность 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов (III a-l)



Соединение	Доза 1/10 от LD_{50} , мг/кг	Время начала судорог, мин.	Количество судорог, наблюдаемых в течение 20 мин.		Прирост к контролю, %	
			Число	%		
Контроль	-	3,8±0,3	101±2	100	-	
Метамизол натрия	250	5,2±0,3	39,99±1	38,94	61,06	
R – H	IIIa	2000	8,6±0,2	6,4±1	6,34	93,66
R – о-бром-	IIIб	>2000	5,4±0,1	10,8±1	10,69	89,31
R – о-метил-	IIIс	>2000	9,5±0,6	6±2	5,94	94,06
R – о-метокси-	IIIд	>2000	17 ±0,4	1,2 ±1	1,19	98,81
R – о-нитро-	IIIе	>2000	7,9 ±0,5	17,8±3	17,62	82,38
R – м-бром-	IIIф	>2000	6,2±0,2	15,4±3	15,25	84,75
R – м-метил-	IIIг	>2000	10,2±0,3	10,3±2	10,2	89,8
R – м-метокси-	IIIh	>2000	13,4±0,3	4,6±1	4,55	95,45
R – м-нитро-	IIIи	>2000	7,8±0,1	13,6±1	13,47	86,53
R – п-бром-	IIIj	>2000	1,3±0,6	10,7±1	10,59	89,41
R – п-метил-	IIIк	>2000	1±0,1	18,2±2	18,02	81,98
R – п-метокси-	IIIл	>2000	8,7±0,3	5,8±1	5,74	94,26

Заключение

Экспериментально доказано, что синтезированные новые 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидины по классификации токсичности препаратов Сидорова К.К. относятся к классу практически нетоксичных веществ и обладают выраженной анальгезирующей активностью. Использование компьютерной программы PASS позволило быстро, без существенных экспериментальных затрат, определить биологическую активность полученных 2-арил-6-(метилтио)-4-хлор-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов.

Литература (references)

1. Измеров И.Ф., Саночкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов. – М.: Медицина, 1977. [Izmerov I.F., Sanotsky I.V., Sidorov K.K. *Parametry toksikometrii promyshlennyh yadov*. Toxicometry parameters of industrial poisons. Moscow: Medicine; 1977. (in Russian)]

2. Офицерова Е.С., Шкляренко А.А., Чернышев В.В., и др. 2-Арил-6-(метилтио)-4-хлор-2H-пиразоло[3,4-d]пиримидины и способ их получения // Патент РФ на изобретение №2708892. Опубликовано 12.12.2019. Бюллетень №35. [Ofitserova Ye.S., Shklyarenko A.A., Chernyshev V.V. i dr. 2-Aryl-6-(metiltio)-4-khlor-2H-pirazolo[3,4-d]pirimidiny i sposob ikh polucheniya. 2-aryl-6-(methylthio)-4-chloro-2H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines and a method for production thereof // Patent of Russian Federation N2708892. Publication 12.12.2019. Bulletin N35. (in Russian)]
3. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Вып. 7. – С. 2090-2120. [Prozorovskiy V.B. *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and Biological Addiction. – 2007. – V.7. – P. 2090-2120. (in Russian)]
4. Bakavoli M., Bagherzadeh G., Vaseghifar M., et al. Molecular iodine promoted synthesis of new pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives as potential antibacterial agents // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2010. – V.45. – P. 647-650.
5. Bhardwaj S., Gupta D. et al. Study of acute, subacute and chronic toxicity test // IJARPB. – 2012. – V.2, N.2. – P. 103-129.
6. Chauhan M., Kumar R. Medicinal attributes of pyrazolo[3,4-d]pyrimidines: A review // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2013.
7. Mavrova AT., Wesselinova D., Tsenov YA., et al. Synthesis, cytotoxicity and effects of some 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives on immunocompetent cells // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2009. – V.44. – P. 63-69.
8. Rashad AE., Hegab MI., Abdel-Megeid RE., et al. Synthesis and anti-HSV-1 evaluation of some pyrazoles and fused pyrazolopyrimidines // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2009. – V.44. – P. 3285.
9. Rashad A.E., Hegab M.I., Abdel-Megeid R.E. et al. Synthesis and antiviral evaluation of some new pyrazole and fused pyrazolopyrimidine derivatives // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2008. – V.16. – P. 7102-7106.
10. Rzeski W., Matysiak J., Kandefer-Szerszen M. Anticancer, neuroprotective activities and computational studies of 2-amino-1,3,4-thiadiazole based compound // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2007. – V.15. – P. 3201-3207.

Информация об авторах

Офицерова Екатерина Сергеевна – аспирант кафедры Органическая химия ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: OfizerovaES@mail.ru

Алексеева Лилия Николаевна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры органическая химия ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: lilia.ovsyannikova@pharminnotech.com

Шкляренко Артем Александрович – аспирант кафедры Органическая химия ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: tjema@yandex.ru

Яковлев Игорь Павлович – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органическая химия ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: nauka@spsra.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.