

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ 6-[(1-НАФТИЛМЕТИЛ)ТИО]-4-ХЛОРПИРАЗОЛО[3,4-*d*]ПИРИМИДИНОВ**Е.С. Офицерова, Л.Н. Алексеева, А.А. Шкляренко, И.П. Яковлев**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
 Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Офицерова Е.С., Алексеева Л.Н., Шкляренко А.А., Яковлев И.П. Биологическая активность новых 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – № 1–2. – С. 146–151. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.1.146-151>

Поступила: 17.12.2019

Одобрена: 29.01.2020

Принята: 16.03.2020

▪ **Актуальность.** В настоящей статье представлены результаты исследования биологической активности новых синтезированных 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов, острую токсичность которых определяли экспериментально на нелинейных белых мышах-самцах общей массой 16–20 г. Для экспериментальной оценки аналгезирующей активности использовали модель генерации уксуснокислых «корчей» у мышей-самцов. Экспериментально было подтверждено, что синтезированные новые соединения нетоксичны и обладают выраженной аналгезирующей активностью. **Цель работы:** изучение биологической активности новых синтезированных 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов. **Материалы и методы.** Прогноз вероятных видов биологической активности осуществляли с помощью компьютерной программы PASS. Острую токсичность 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов определяли экспериментально на нелинейных белых мышах-самцах. Анальгезирующую активность устанавливали на модели уксуснокислых «корчей» у мышей. **Результаты.** 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидины были отнесены к классу нетоксичных веществ (LD_{50} — 2000 мг/кг). Анальгезирующая активность у исследуемых соединений была выше препарата сравнения. **Заключение.** Синтезированные новые 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидины нетоксичны и обладают выраженной аналгезирующей активностью.

▪ **Ключевые слова:** 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидины; биологическая активность; программа PASS; острая токсичность; аналгезирующая активность.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW 6-[(1-NAPHTHYLMETHYL)THIO]-4-CHLOROPYRAZOLO[3,4-*d*]PYRIMIDINES**E.S. Ofitserova, L.N. Alekseeva, A.A. Shklyarenko, I.P. Yakovlev**

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Ofitserova ES, Alekseeva LN, Shklyarenko AA, Yakovlev IP. Biological activity of new 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2020;(1-2):146-151. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2020.20.1.146-151>

Received: 17.12.2019

Revised: 29.01.2020

Accepted: 16.03.2020

▪ **Topicality.** This article presents the results of the study of the biological activity of newly synthesized 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines. The acute toxicity of 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines was determined experimentally on non-linear white male mice with a total weight of 16–20 g. A generation model was used to experimentally evaluate the analgesic activity acetic “writhing” in male mice. It was experimentally confirmed that the new synthesized 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines were non-toxic and had pronounced analgesic activity. **Aim:** to study the biological activity of the new synthesized 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines. **Materials and methods.** The prediction of the likely types of biological activity was carried out with the use of PASS computer program. The acute toxicity of

6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines was determined experimentally on non-linear white male mice. Analgesic activity was established on a model of acetic acid “writhing” in mice. **Results.** 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines were classified as non-toxic substances (LD_{50} — 2000 mg/kg). The analgesic activity of the test compounds was higher than that of the reference drug. **Conclusion.** The new synthesized 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines are non-toxic and have pronounced analgesic activity.

▪ **Keywords:** 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines; biological activity; PASS program; acute toxicity; analgesic activity.

Введение

Пиразолопиримидины представляют собой конденсированные гетероциклические системы, структурно напоминающие производные пуринов [5]. Простейшими представителями данного класса соединений являются аллопуринол и его метаболит оксипуринол, активно применяемые в терапии гиперуриемии [8]. Среди пиразолопиримидинов были выявлены вещества, проявляющие противовирусную [9, 6], противомикробную [3, 12], противовоспалительную [10] активности. В последние несколько десятилетий интерес к этим соединениям продолжает расти благодаря открытию их противоопухолевой активности [7, 11]. В связи с чем авторы приняли решение о поиске новых пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов и изучении их биологической активности.

Новые 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидины получают взаимодействием 4,6-дихлор-2-[(1-нафтилметил)тио]пиримидин-5-карбальдегида (I) с замещенным бензгидразином (II) (или замещенным фенилгидразином гидрохлоридом) в тетрагидрофуране при нагревании и перемешивании в течение 10–15 ч. Реакционную

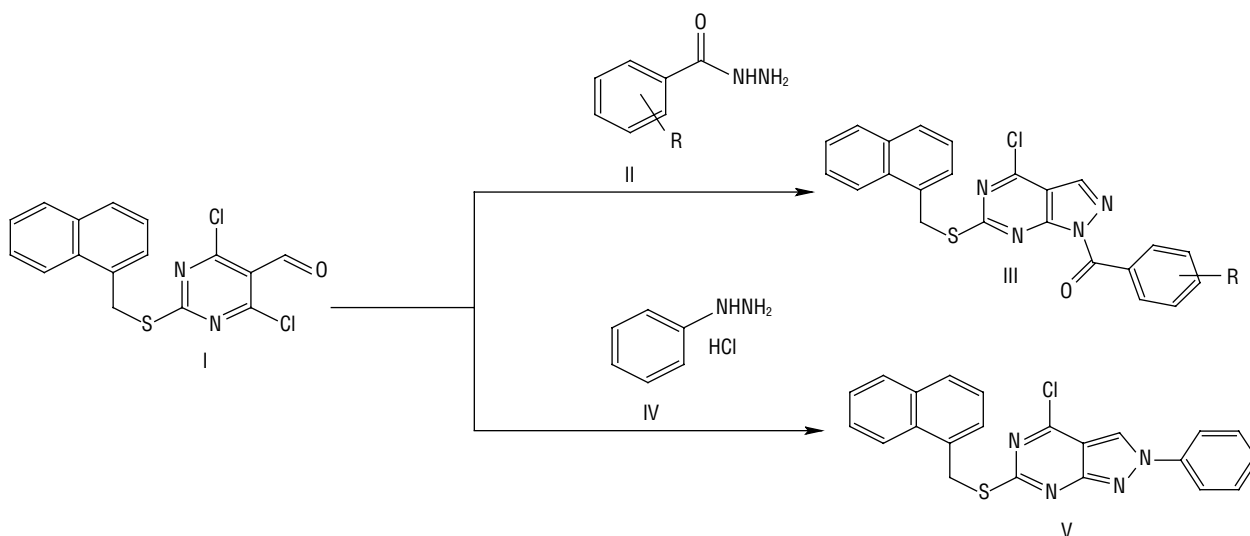
массу разбавляют водой и перемешивают. Полученный осадок фильтруют и промывают небольшим количеством воды. Выход продуктов составляет 50–85 % (см. рисунок).

Цель работы — изучение биологической активности новых синтезированных 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов.

Методы и материалы

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 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[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. 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидины вводили однократно, внутрибрюшинно в интервале доз от 1 до 2000 мг/кг в виде суспензии в смеси



Синтез 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов

Synthesis of 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines

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 LD₅₀ веществ проводили с помощью экспресс-метода В.Б. Прозовского [2] и пробит-анализа по методу Миллера – Тейнтера [1].

Анальгезирующую активность 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[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 LD₅₀, 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. Подсчитывали количество корчей у каждой мыши в течение 20 мин.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладной программы Microsoft Excel и экспресс-метода по Прозовскому [2].

Общая методика синтеза соединений IIIa–с. В круглодонную колбу емкостью 25 мл загружают 0,5 г (1,43 ммоль) 4,6-дихлор-2-[(1-нафтилметил)тио]пиримидин-5-карбальдегида (I) и 10 мл тетрагидрофурана, затем добавляют (1,43 ммоль) замещенный бензгидразид (II) и 0,24 мл триэтиламина (1,72 ммоль). Реакционную смесь кипятят при активном перемешивании. Охлаждают, заливают 30 мл воды и перемешивают в течение 3 ч. В ходе перемешивания происходит перерождение осадка. В результате выпадает осадок почти белого цвета. Смесь отфильтровывают и промывают небольшими порциями воды очищенной.

1-(3-Метоксибензоил)-6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлор-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин (IIIa). Кипячение 10 ч. Получен порошок светло-желтого цвета, выход 80 %. Т. пл. 110 °С (разлож.). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д.: 4,60 с (2H, CH₂), 4,95 с (3H, CH₃), 6,85 д (1H, H_{аром.}, *J* = 6,52 Гц), 7,75 д (2H, H_{аром.}, *J* = 7,03 Гц), 7,84 д (1H, H_{аром.}, *J* = 8,28 Гц), 7,91 д (2H, H_{аром.}, *J* = 8,28 Гц), 7,99 д (3H, H_{аром.}, *J* = 8,03 Гц), 8,24 д (2H, H_{аром.}, *J* = 7,27 Гц), 8,35 с (1H, H_{аром.}). Найдено, %: С 62,51; Н 3,71; N 12,13; O 6,97. C₂₄H₁₇ClN₄O₂S. Вычислено, %: С 62,54; Н 3,72; N 12,16; O 6,96.

6-[(1-Нафтилметил)тио]-1-(4-хлорбензоил)-4-хлор-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин (IIIb). Кипячение 15 ч. Получен светло-желтый порошок, выход 52 %. Т. пл. 245 °С (разлож.). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д.: 4,62 с (2H, CH₂), 6,85 д (1H, H_{аром.}, *J* = 7,28 Гц), 7,37–7,41 м (1H, H_{аром.}), 7,48–7,52 м (2H, H_{аром.}), 7,76 д (1H, H_{аром.}, *J* = 6,53 Гц), 7,85 д (1H, H_{аром.}, *J* = 8,29 Гц), 8,00 д (3H, H_{аром.}, *J* = 8,03 Гц), 8,22–8,25 м (2H, H_{аром.}), 10,64 с (1H, H_{аром.}). Найдено, %: С 59,31; Н 3,00; N 12,02; O 3,42. C₂₃H₁₄Cl₂N₄OS. Вычислено, %: С 59,36; Н 3,03; N 12,04; O 3,44.

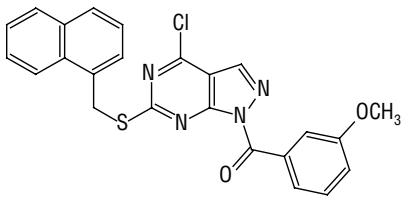
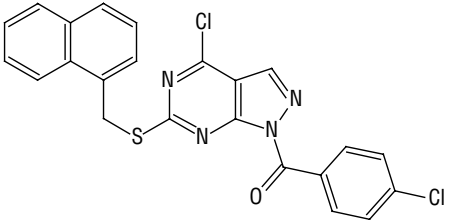
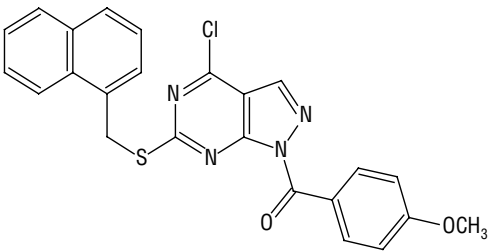
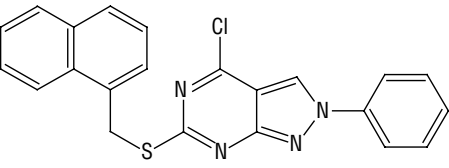
1-(4-Метоксибензоил)-6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлор-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин (IIIc). Кипячение 10 ч. Получен мелкокристаллический порошок желтого цвета, выход 85 %. Т. пл. 230 °С (разлож.). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д.: 4,62 с (3H, CH₃), 4,96 с (2H, CH₂), 6,86 д (1H, H_{аром.}, *J* = 6,78 Гц), 7,37–7,41 м (1H, H_{аром.}), 7,48–7,51 м (2H, H_{аром.}), 7,75 д (1H, H_{аром.}, *J* = 6,27 Гц), 7,85 д (1H, H_{аром.}, *J* = 8,28 Гц), 7,92 д (2H, H_{аром.}, *J* = 8,28 Гц), 7,99 д (3H, H_{аром.}, *J* = 8,03 Гц), 8,26 с (1H, H_{аром.}). Найдено, %: С 62,52; Н 3,70; N 12,13; O 6,94. C₂₄H₁₇ClN₄O₂S. Вычислено, %: С 62,54; Н 3,72; N 12,16; O 6,96.

Синтез 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлор-2-фенил-2*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидина (V). В круглодонную колбу емкостью 25 мл загружают 0,5 г (1,43 ммоль) 4,6-дихлор-2-[(1-нафтилметил)тио]пиримидин-5-карбальдегида (I) и 10 мл тетрагидрофурана, затем добавляют 0,21 г (1,43 ммоль) фенилгидразина солянокислого (IV) и 0,44 мл триэтиламина (3,15 ммоль). Реакционную смесь кипятят при активном перемешивании в течение 12 ч. Охлаждают, заливают 30 мл воды и перемешивают в течение 3 ч. В ходе перемешивания происходит перерождение осадка. В результате выпадает осадок почти белого цвета. Смесь отфильтровывают и промывают небольшими порциями воды очищенной. Получили порошок светло-желтого цвета, выход 76 %. Т. пл. 220 °С (разлож.). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д.: 4,61 с (2H, CH₂), 6,86 д (1H, H_{аром.}, *J* = 7,27 Гц), 7,37–7,47 м (1H, H_{аром.}), 6,75 д (1H, H_{аром.}, *J* = 6,27 Гц), 7,85 д (1H, H_{аром.}, *J* = 8,28 Гц), 7,91–7,95 м (3H, H_{аром.}), 7,99 д (1H, H_{аром.}, *J* = 8,03 Гц), 8,21–8,26 м (2H, H_{аром.}), 10,52 с (1H, H_{аром.}). Найдено, %: С 65,54; Н 3,72; N 13,88. C₂₂H₁₅ClN₄S. Вычислено, %: С 65,58; Н 3,75; N 13,90.

Результаты и обсуждение

Результаты предварительного скрининга биологической активности, проведенные с помощью программы PASS, показали анальгези-

Анальгезирующая активность 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов
 Analgesic activity of 6-[(1-naphthylmethyl)thio]-4-chloropyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines

| 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 | |
|  1-(3-Метоксибензоил)-6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлор-1 <i>H</i> -пиразоло[3,4- <i>d</i>]пиримидин | IIIa | >2000 | 8,5 ± 0,2 | 2 ± 1 | 1,98 | 98,02 |
|  6-[(1-Нафтилметил)тио]-1-(4-хлорбензоил)-4-хлор-1 <i>H</i> -пиразоло[3,4- <i>d</i>]пиримидин | IIIb | >2000 | 4,6 ± 0,2 | 16,2 ± 1 | 16,04 | 83,96 |
|  1-(4-Метоксибензоил)-6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлор-1 <i>H</i> -пиразоло[3,4- <i>d</i>]пиримидин | IIIc | >2000 | 1,5 ± 0,1 | 9,6 ± 1 | 9,5 | 90,5 |
|  6-[(1-Нафтилметил)тио]-4-хлор-2-фенил-2 <i>H</i> -пиразоло[3,4- <i>d</i>]пиримидин | V | >2000 | 2,6 ± 0,1 | 9 ± 1 | 8,9 | 91,1 |

рующую активность с вероятностью P_a от 0,19 до 0,22. Дальнейшим этапом работы стало экспериментальное подтверждение данных видов активности.

В экспериментах была установлена острая токсичность при внутривенном введении. Для 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидинов LD_{50} составила 2000 мг/кг, поэтому соединения по классификации токсичности препаратов К.К. Сидорова

были отнесены к классу практически нетоксичных веществ [4].

При подсчете количества корч у мышей при установлении анальгезирующей активности оказалось, что полученные 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидины приводят к уменьшению числа судорог у животных на 83–98 %, по сравнению с препаратом сравнения метамизолом натрия, активность которого составляет 61 % (см. таблицу).

Заключение

Экспериментально показано, что синтезированные новые 6-[(1-нафтилметил)тио]-4-хлорпиразоло[3,4-*d*]пиримидины по классификации токсичности препаратов К.К. Сидорова 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 новых соединений.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Измеров И.Ф., Саночкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов. – М.: Медицина, 1977. – 240 с. [Izmerov IF, Sanotskiy IV, Sidorov KK. Parametry toksikometrii promyshlennykh yadov. Moscow: Meditsina; 1977. 240 p. (In Russ.)]
2. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований // Психофармакология и биологическая наркологи́я. – 2007. – Т. 7. – № 3. – С. 2090–2120. [Prozorovskiy VB. Statistic processing of data of pharmacological investigations. *Psychopharmacology and Biological Narcology*. 2007;7(3):2090-2120. (In Russ.)]
3. Bakavoli M, Bagherzadeh G, Vaseghifar M, et al. Molecular iodine promoted synthesis of new pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine derivatives as potential antibacterial agents. *Eur J Med Chem*. 2010;45(2):647-650. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.10.051>.
4. Bhardwaj S, Gupta D. Study of acute, sub acute and chronic toxicity test. *IJARPB*. 2012;1(2):103-129.
5. Chauhan M, Kumar R. Medicinal attributes of pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines: a review. *Bioorg Med Chem*. 2013;21(18):5657-5668. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.07.027>.
6. Holla BS, Mahalinga M, Karthikeyan MS, et al. Synthesis of some novel pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine derivatives as potential antimicrobial agents. *Bioorg Med Chem*. 2006;14(6):2040-2047. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.10.053>.
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. *Eur J Med Chem*. 2009;44(1):63-69. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.03.006>.
8. Rashad AE, Hegab MI, Abdel-Megeid RE, et al. Synthesis and anti-HSV-1 evaluation of some pyrazoles and fused pyrazolopyrimidines. *Eur J Med Chem*. 2009;44(8):3285-3292. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.02.012>.
9. Rashad AE, Hegab MI, Abdel-Megeid RE, et al. Synthesis and antiviral evaluation of some new pyrazole and fused pyrazolopyrimidine derivatives. *Bioorg Med Chem*. 2008;16(15):7102-7106. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.06.054>.
10. Rzeski W, Matysiak J, Kandefer-Szerszen M. Anticancer, neuroprotective activities and computational studies of 2-amino-1,3,4-thiadiazole based compound. *Bioorg Med Chem*. 2007;15(9):3201-3207. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.02.041>.
11. Tamta H, Sukirti K, Mukhopadhyay AK. Biochemical characterization of some pyrazolopyrimidine based inhibitors of xanthine. *Biochemistry (Moscow)*. 2006;71 Suppl 1:S49-S54. <https://doi.org/10.1134/S0006297906130086>.
12. Trivedi AR, Dholariya BH, Vakhariya CP, et al. Synthesis and anti-tubercular evaluation of some novel pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine derivatives. *Med Chem Res*. 2012;21(8):1887-1891. <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9712-3>.

■ Информация об авторах

Екатерина Сергеевна Офитерова — аспирант кафедры органической химии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: OfizerovaES@mail.ru.

Лилия Николаевна Алексеева — кандидат фармацевтических наук, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: lilia.ovsyannikova@pharminnotech.com.

■ Information about the authors

Ekaterina S. Ofitserova — Postgraduate student, Department of Organic Chemistry, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: OfizerovaES@mail.ru.

Lilia N. Alekseeva — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: lilia.ovsyannikova@pharminnotech.com.

Артем Александрович Шкляренко — аспирант кафедры органической химии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: tjema@yandex.ru.

Игорь Павлович Яковлев — доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: nauka@spsra.ru.

Artem A. Shklyarenko — Postgraduate student, Department of Organic Chemistry, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: tjema@yandex.ru.

Igor P. Yakovlev — Doctor of Chemical Sciences, Professor, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: nauka@spsra.ru.