



УДК 547.866.5;615.214.22

ДИЗАЙН, СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ АНКСИОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПИРРОЛО[1,2-*a*]ПИРАЗИН-СОДЕРЖАЩИХ ЛИГАНДОВ TSPO

© 2023 г. Г. В. Мокров*,#, А. С. Пантилеев*, М. А. Яркова*, И. В. Рыбина*, Т. А. Гудашева*, Ю. В. Вахитова*, С. Б. Середенин*

*ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, 8

Поступила в редакцию 05.10.2022 г.

После доработки 10.10.2022 г.

Принята к публикации 12.10.2022 г.

Получена новая группа 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамидов, в которых заместителями при амидном атоме азота выступают алкильные, бензильные или алкоксифенилалкильные группы, остатки аминокислот или их производные. Синтезированные соединения имеют высокие теоретические значения аффинности по отношению к транслокаторному белку 18 кДа (TSPO) и благоприятный профиль ADMET-характеристик, что обуславливает их перспективность для разработки в качестве лекарственных средств. У восьми соединений в дозах 0.1–5.0 мг/кг при внутрибрюшинном введении в условиях эмоционально-стрессового воздействия в тесте “открытое поле” у мышей линии Balb/c и в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” у мышей ICR выявлена анксиолитическая активность. Для дальнейшей разработки в качестве потенциального анксиолитического средства было отобрано соединение-лидер *N*-бензгидрил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамид, показавший наличие противотревожной активности в широком интервале доз в обоих используемых тестах.

Ключевые слова: лиганды TSPO, пирроло[1,2-*a*]пиперазины, молекулярное моделирование, анксиолитическая активность, животные модели

DOI: 10.31857/S0132342323020173, **EDN:** PGKDNM

ВВЕДЕНИЕ

Современная стратегия фармакологической регуляции транслокаторного белка 18 кДа (TSPO) рассматривается как научная основа для создания анксиолитиков, обладающих существенным превосходством над бензодиазепинами, действие которых сопровождается седативным влиянием, миорелаксацией и побочными эффектами в виде атаксии, нарушений памяти, синдрома отмены и зависимости [1, 2].

TSPO – белок-переносчик массой 18 кДа с пятью трансмембранными доменами, локализованный на внешней митохондриальной мембране

стероид-продуцирующих клеток нервной системы. Основная функция TSPO – транспорт холестерина на внутреннюю мембрану митохондрий, что обеспечивает биосинтез нейростероидов [3]. Известно, что нейростероиды имеют специфический сайт связывания на ГАМК_A-рецепторе [4], взаимодействие с которым увеличивает частоту открытия хлорного канала, что усиливает торможение передачи нервного возбуждения [5]. Установлено, что анксиолитический эффект нейростероидов свободен от нежелательных эффектов бензодиазепинов [6]. Механизм фармакологической регуляции TSPO включает аллостерическую модуляцию белка, приводящую к активации переноса холестерина и усилению биосинтеза нейростероидов [7]. Следовательно, лигандная активация TSPO включает эндогенные физиологические механизмы контроля ангиогенеза.

Недавние обзоры демонстрируют неослабевающий интерес к поиску новых лигандов TSPO в качестве потенциальных нейропсихотропных агентов [1, 8]. В ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова” с 2014 г. проводился синтез новых лигандов TSPO с целью создания препаратов

Сокращения: ADMET – расчетные характеристики всасывания, распределения, метаболизма, выведения и токсичности соединений; DS – Docking score (скоринг-функция); hERG-канал – калиевый канал, кодируемый геном human Ether-a-go-go Related Gene; LogBB – уровень проникновения веществ через гематоэнцефалический барьер; LogP – показатель липофильности на разделе фаз октанол/вода; TSPO – транслокаторный белок 18 кДа; ГАМК_A-рецептор – рецептор гамма-аминомасляной кислоты подтипа A; ОП – тест “открытое поле”; ПКЛ – тест “приподнятый крестообразный лабиринт”.

Автор для связи: (тел.: +7 (926) 185-68-46; эл. почта: g.mokrov@gmail.com).

с нейрорепродуктивной активностью в группах гетероциклических [9, 10] и пептидных соединений [11, 12]. На основе ядра пирроло[1,2-*a*]пиперазина сконструирована группа новых гетероциклических TSPO-лигандов, среди которых получены высокоаффинные и TSPO-селективные соединения. В патенте RU 2572076 С2 описан класс лигандов TSPO, который относится к группе 1-арилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамидов [13]. Соединения ГМЛ-1 (*N*-бензил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамид) и ГМЛ-3 (*N*-бутил-*N*-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамид) из этой группы проявили выраженную анксиолитическую активность в стандартных тестах, при этом было доказано, что их эффекты обусловлены взаимодействием с сайтом связывания белка TSPO. Методом радиолигандных исследований установлено, что ГМЛ-1 и ГМЛ-3 обладают высоким сродством к TSPO ($K_i = 52$ и 530 нМ соответственно) [9]. В продолжении фармакологических исследований выявлено, что соединения ГМЛ-1 и ГМЛ-3 обладают антидепрессивной и ноотропной активностью [14], что позволяет рассматривать их как новую группу веществ с оригинальным фармакологическим спектром.

В патенте RU 2734240 С2 представлена группа *N*,1-дифенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамидов, в которой также были выявлены соединения, обладающие анксиолитическими свойствами [15]. Наиболее активные соединения ГМЛ-11 (*N*-бензил-*N*,1-дифенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамид) и ГМЛ-21 (*N*-метил-*N*,1-дифенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамид) обладали анксиолитическим действием в очень низких дозах (0.001–0.1 и 0.05–1.0 мг/кг соответственно).

Цель настоящего исследования – дальнейший поиск соединений с анксиолитической активностью в ряду новых лигандов TSPO с пирроло[1,2-*a*]пиперазиновым ядром, обладающих высоким теоретическим сродством к белку TSPO, высокой эффективностью и безопасностью и имеющих благоприятный профиль расчетных ADMET-параметров.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дизайн новых лигандов TSPO с пирроло[1,2-*a*]пиперазиновым ядром. Для дизайна новых потенциальных лигандов TSPO было осуществлено несколько этапов молекулярного моделирования. На первом этапе была собрана библиотека наиболее перспективных известных лигандов TSPO, обладающих как наилучшими характеристиками связывания с рецептором, так и наиболее привле-

кательным спектром биологической активности (рис. 1). Среди них производные имидазопиридина YL-IPA08 и СВ-34, бензоксазин Этифоксин, пиридоиндол ONO-2952, производное индола FGIN-1-27, арилоксианилид DAA-1106, производные пирролопиперазина GML-1 и GML-3, бензодиазепин Ro5-4864, изохинолин PK-11195 и производные пурина XBD-173 и ZBD-2.

С использованием библиотеки и программного обеспечения Phase (Schrödinger) была сгенерирована уточненная фармакофорная модель лигандов TSPO (рис. 2). Алгоритм программы создает суперпозицию набора пространственных и электронных признаков молекул, включая гидрофобные области и ароматические ядра, доноры и акцепторы водородной связи, анионные и катионные центры и их векторное расположение. Согласно визуализации расчетов, полученная модель имеет следующие компоненты: 1) две ароматические группы, одна из которых, как правило, гетероциклическая (R7 и R8); 2) алифатическую или ароматическую гидрофобную группу (H5); 3) группу акцептора электронов (A1), в большинстве молекул находится между группами H5 и R7/R8.

Для скрининга *in silico* использовали различные производные 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиперазин-3-карбоксамидов, содержащие при амидном атоме азота линейные и циклические алкильные, арильные, гетарильные, бензильные или арилалкильные группы с различными заместителями в ароматических кольцах, остатки аминокислот или их производные по карбоксильной группе.

Молекулярный докинг проводили с использованием структуры TSPO мыши в комплексе с селективным лигандом PK-11195 (PDB ID: 2MGY) в программе Glide v8.1 [16]. Параметры ADMET рассчитывали в программе QikProp v6.8 (Schrödinger) [17]. Среди ключевых оценивали следующие характеристики: молекулярный вес, дипольный момент, молекулярный объем, количество доноров и акцепторов водородных связей, ионизационный потенциал, параметры липофильности в различных системах, степень связываемости с белками плазмы крови, параметр проникновения через гематоэнцефалический барьер, аффинность к hERG-инному каналу, уровень проникновения через мембраны, соответствие “правилу 5” Липинского и “правилу 3” Йоргенсена, оральную биодоступность и ряд других. Токсикологические параметры оценивали с использованием программы ADMETlab 2.0 [18]. Рассчитывали токсикологический риск соединений в тесте Эймса, острую токсичность у крыс, канцерогенный потенциал,

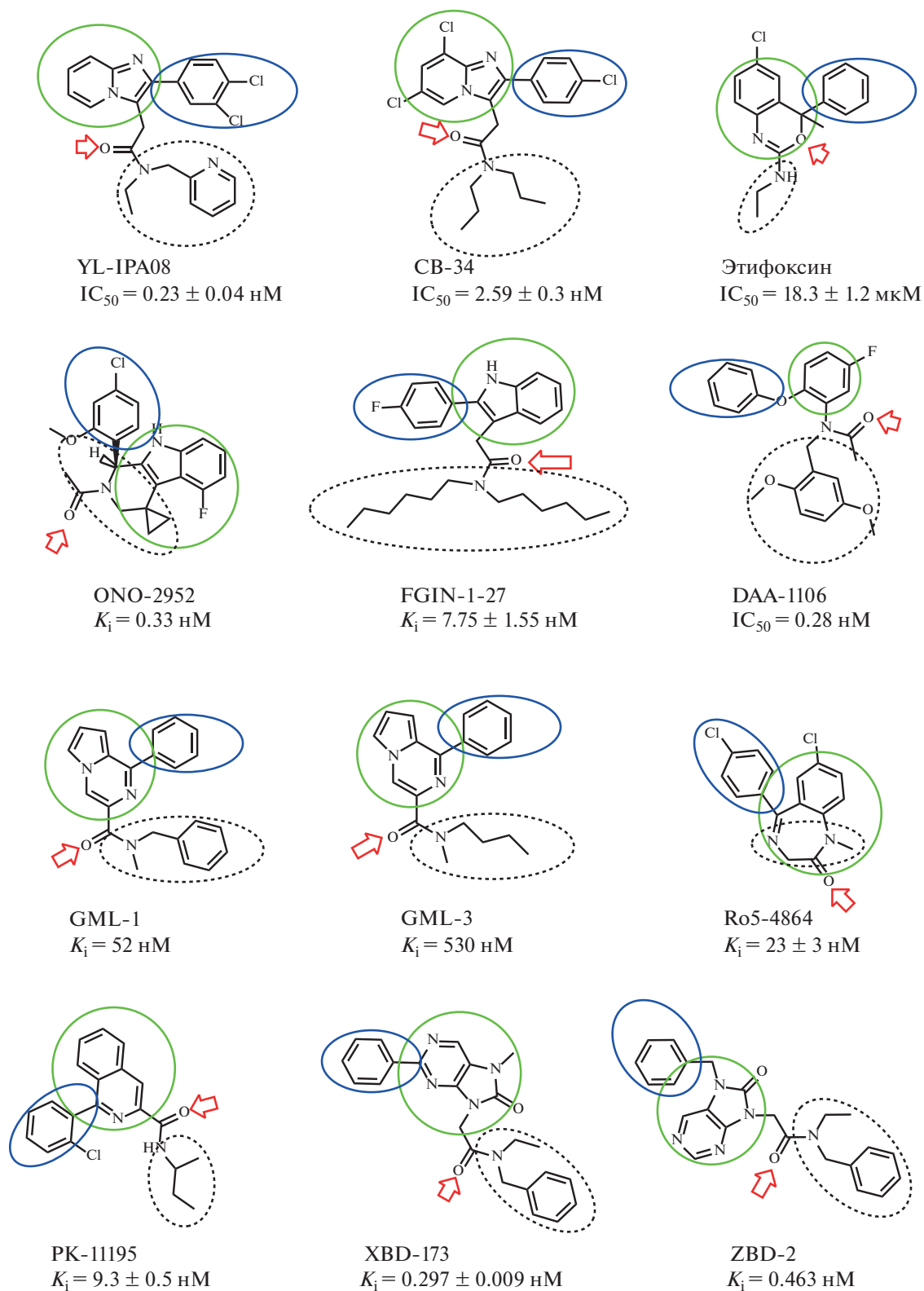


Рис. 1. Классические синтетические лиганды TSPO с экспериментальными константами ингибирования. Ароматические ядра обведены зелеными окружностями, арильные заместители – синими окружностями, гидрофобные группы – черными пунктирными окружностями, электроноакцепторные группы показаны красными стрелками.

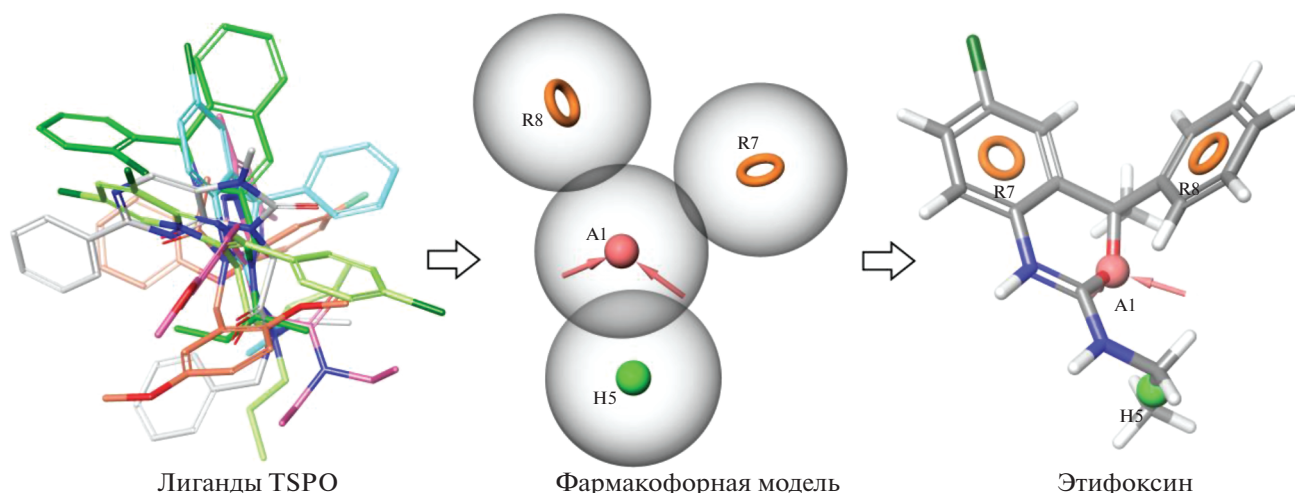


Рис. 2. Фармакофорная модель лигандов TSPO, сгенерированная с использованием программы Phase (<https://www.schrodinger.com/products/phase>). Оранжевые кольца R7 и R8 соответствуют ароматическим/гетероароматическим группам, розовая сфера A1 представляет электроноакцепторную группу, зеленая сфера H5 – алифатическую или ароматическую гидрофобную группу. В качестве примера представлено соответствие фармакофорной модели молекулы этифоксина.

воспалительные свойства по отношению к различным тканям и ряд других параметров.

Отобранные по результатам молекулярного моделирования и результатам оценки расчетных параметров наиболее перспективные соединения представлены в табл. 1 и 2. Все эти молекулы продемонстрировали высокую теоретическую аффинность по отношению к активному центру TSPO. Скоринг-функция DS (Docking score), определяющая энергию взаимодействия “лиганд–рецептор”, для всех веществ была ниже значения -8 (табл. 1). Среди ключевых наблюдали следующие взаимодействия “лиганд–рецептор” (табл. 1, рис. 3 и 4): подавляющее большинство соединений имели π – π -стэкинг-подобное взаимодействие пиррольного или фенильного кольца с Trp143 (исключение – ГМЛ-101) и гидрофобное взаимодействие с последовательностью Leu49–Trp53 (исключение – ГМЛ-12). Около половины отобранных соединений имели гидрофобные взаимодействия с последовательностями Trp107–Leu114 и Ser41–Arg46. У ГМЛ-12 и ГМЛ-110 наблюдали π – π -стэкинг-подобное взаимодействие с Trp107. У ГМЛ-101 фиксировали π -катионное взаимодействие фенильной группы с His43, а у ГМЛ-103 – дополнительное π – π -стэкинг-подобное взаимодействие с Phe146. У диметоксипроизводного ГМЛ-104 наблюдалось π -катионное взаимодействие арильного цикла с His43, π – π -стэкинг-подобное взаимодействие фенильной группы с Trp95 и водородная связь атома кислорода метоксигруппы с Lys39. Среди дополнительных взаимодействий соединений

ГМЛ-106 и ГМЛ-110 фиксировалось полярное взаимодействие с последовательностью Lys39–Arg46. Наконец, у тирозин-содержащего соединения ГМЛ-112 была выявлена водородная связь гидроксигруппы с Ser41.

Результаты оценки основных ADMET-параметров отобранных соединений представлены в табл. 2. Значения молекулярного веса находились для всех соединений в пределах 319–452 г/моль, что попадает в интервал 130–725 г/моль, соответствующий 95% известных лекарственных препаратов. Дипольные моменты соединений составляли 4.1–8.4, что вписывается в рекомендуемые параметры для потенциальных лекарственных средств (1.0–12.5). Липофильность соединений оценивали путем расчета прежде всего параметра Log P (липофильность на разделе фаз октанол/вода). Известно, что лиганды TSPO, как правило, обладают достаточно высокими значениями липофильности (Log P не менее 3.5). Расчетные значения гидрофобности (Log P) новых соединений находились в диапазоне 3.7–6.5. Следует отметить, что высокий коэффициент липофильности необходим для образования устойчивой π – π -связи с остатками триптофана белка. Уровень проникновения соединений через гематоэнцефалический барьер (Log BB) также находился в рекомендуемых пределах от -3.0 до -1.2 . Все новые соединения соответствовали правилам Липинского и Йоргенсена, определяющим необходимые требования к строению перорально активных лекарственных средств (расчетные значения

Таблица 1. Результаты расчетов теоретических значений аффинности новых потенциальных лигандов TSPO ряда пирроло [1,2-*a*]пиперазинов

Соединение	Амидный заместитель	Эфир	Docking score	π-π-стэкинг с Trp107	π-π-стэкинг с Trp143	Гидрофобные взаимодействия			Дополнительные взаимодействия
						Leu49–Trp53	Trp107–Leu114	Ser41–Arg46	
ГМЛ-12	Pr, Pr	–	–8.999	+	+	–	+	+	
ГМЛ-101	Et, Bz	–	–10.144	–	–	+	+	+	“π-катион” с His43
ГМЛ-102	CHPh ₂	–	–9.551	–	+	+	+	+	
ГМЛ-103	Bz, Bz	–	–9.278	–	+	+	+	–	“π-π” с Phe146
ГМЛ-104	(CH ₂) ₂ Ph(OMe) ₂ -3,4	–	–9.404	–	+	+	–	+	“π-катион” с His43; “π-π” с Trp95; Н-связь с Lys39
ГМЛ-105	CH ₂ Ph(OMe) ₃ -3,4,5	–	–9.391	–	+	+	–	+	
ГМЛ-106	L-Phe	Me	–10.208	–	+	+	–	–	Полярное взаимодействие с Lys39–Arg46
ГМЛ-107	–(CH ₂) ₇ –	–	–9.193	–	+	+	–	–	
ГМЛ-108	L-Glu	Et	–9.125	–	+	+	–	–	
ГМЛ-109	L-Asp	Et	–9.603	–	+	+	–	–	
ГМЛ-110	L-Ala	Me	–8.726	+	+	+	–	–	Полярное взаимодействие с Lys39–Arg46
ГМЛ-111	L-Trp	Et	–8.083	–	+	+	+	–	
ГМЛ-112	D-Tyr	Et	–10.119	–	+	+	–	–	Н-связь с Ser41
ГМЛ-113	L-Phe	–	–10.095	–	+	+	+	–	

Таблица 2. Результаты расчетов параметров ADMET новых потенциальных лигандов TSPO ряда пирроло[1,2-*a*]пипразинов

Соединение	Амидный заместитель	Эфир	Молекулярный вес	Дипольный момент	LogP	LogBB	“Правило 5” Липинского	“Правило 3” Йоргенсена	Оральная доступность, %	Тест Эймса	Острая токсичность у крыс
ГМЛ-12	Pr, Pr	—	321.421	5.218	4.826	-0.223	0	0	100	—	—
ГМЛ-101	Et, Bz	—	355.438	4.266	5.433	-0.045	1	1	100	—	—
ГМЛ-102	CNPh ₂	—	403.482	5.183	6.506	-0.209	1	1	100	—	—
ГМЛ-103	Bz, Bz	—	417.509	4.066	5.993	-0.112	1	0	100	—	—
ГМЛ-104	(CH ₂) ₂ Ph(OMe) ₂ -3,4	—	401.464	6.692	5.032	-0.222	1	0	100	+	—
ГМЛ-105	CH ₂ Ph(OMe) ₃ -3,4,5	—	417.463	6.112	4.786	-0.335	0	0	100	—	—
ГМЛ-106	L-Phe	Me	399.448	6.215	5.163	-0.676	1	1	100	—	—
ГМЛ-107	-(CH ₂) ₇ -	—	319.405	4.690	4.398	0.096	0	0	100	—	—
ГМЛ-108	L-Glu	Et	423.468	5.230	4.310	-1.027	0	0	100	—	—
ГМЛ-109	L-Asp	Et	409.441	7.367	4.001	-1.325	0	0	100	—	—
ГМЛ-110	L-Ala	Me	323.351	4.478	3.689	-0.751	0	0	100	—	—
ГМЛ-111	L-Trp	Et	452.512	8.433	5.743	-0.954	1	1	100	—	—
ГМЛ-112	D-Tyr	Et	429.474	4.216	4.874	-1.240	0	1	100	—	—
ГМЛ-113	L-Phe	—	385.421	6.838	5.126	-1.043	1	1	84	—	—

Примечание: LogP — показатель липофильности на разделе фаз октанол/вода; LogBB — уровень проникновения веществ через гематоэнцефалический барьер. По данным теста Эймса и острой токсичности у крыс указан эффект исследуемых соединений: наличие эффекта (+), отсутствие эффекта (—), неоднозначное отсутствие эффекта (— — —).

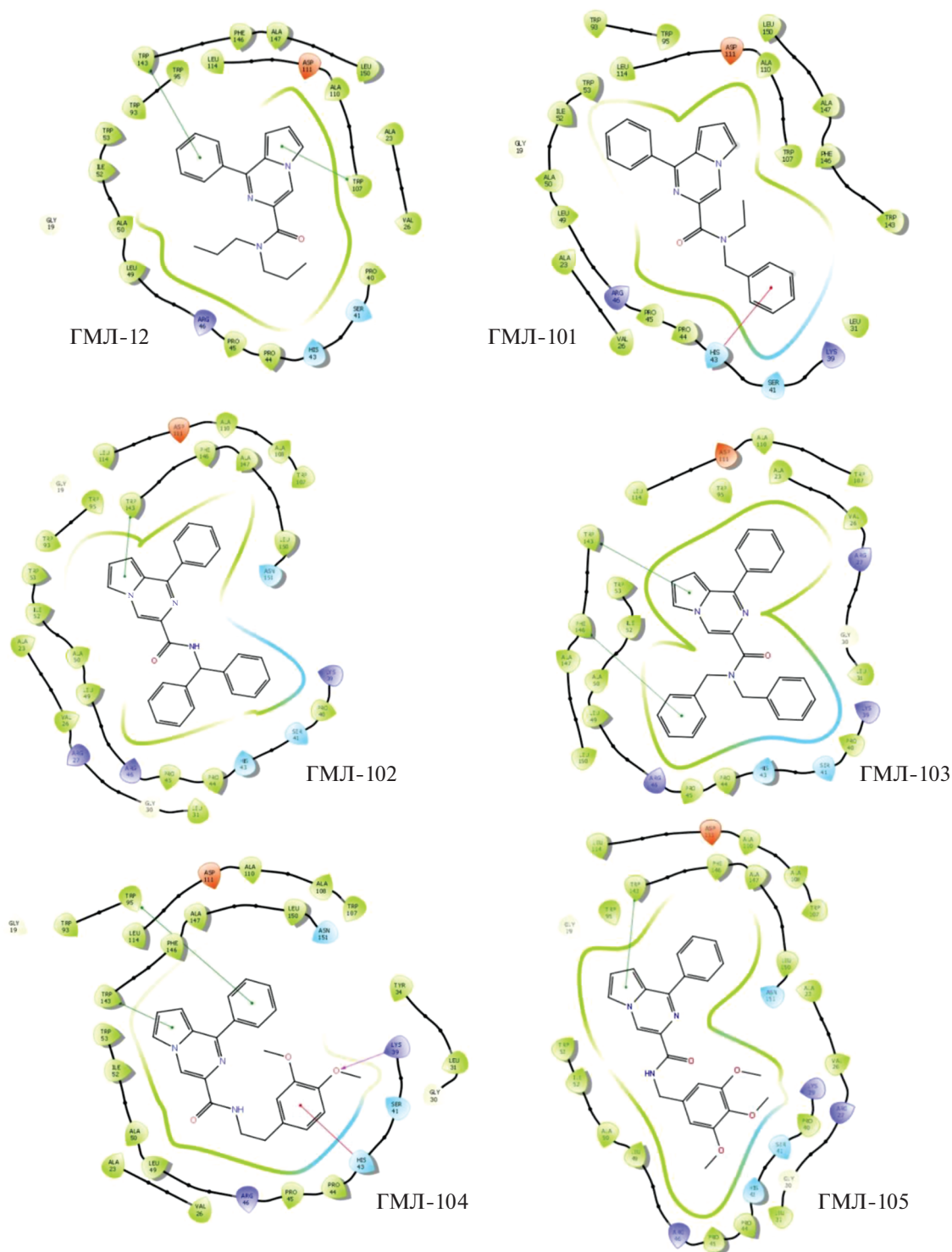


Рис. 3. Результаты молекулярного докинга новых производных 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамидов (ГМЛ-12, ГМЛ-101–ГМЛ-105) в активный сайт рецептора TSPO (PDB ID: 2MGY) в 2D-проекции.

для соединений не должны превышать 4 и 3 баллов соответственно). Оральная биодоступность новых соединений была максимально

высокой (100% для всех соединений), за исключением соединения ГМЛ-113 (84%). Расчетные параметры токсичности отобранных молекул

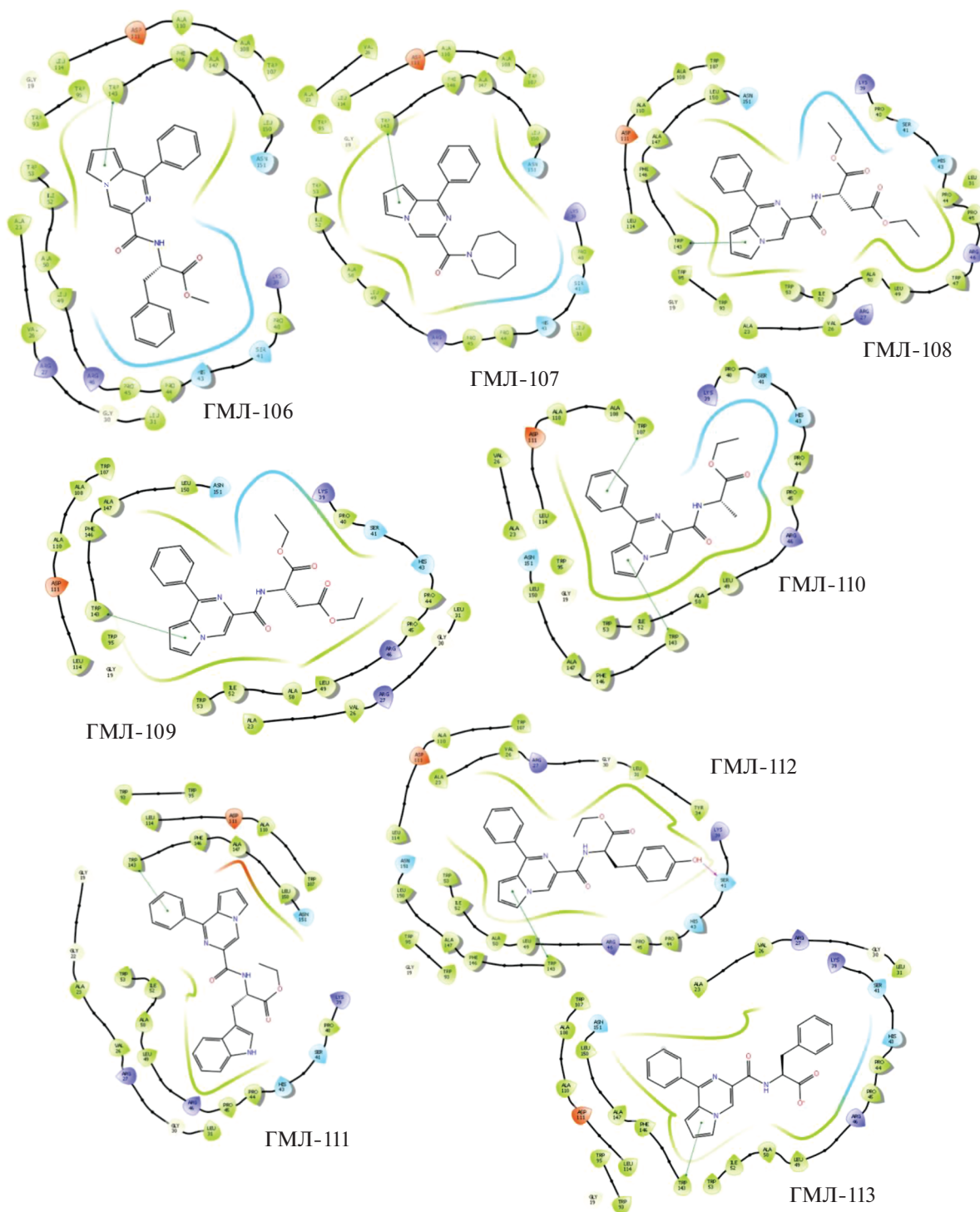


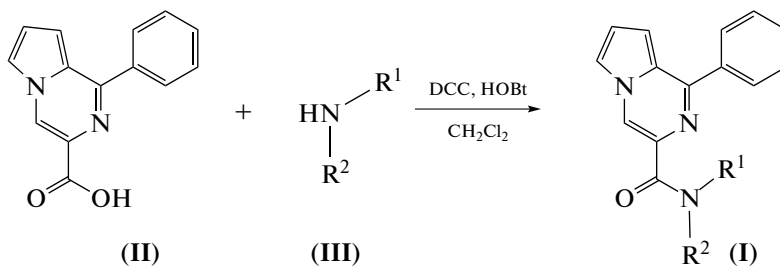
Рис. 4. Результаты молекулярного докинга новых производных 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пипразин-3-карбоксамидов (ГМЛ-106–ГМЛ-112) в активный сайт рецептора TSPO (PDB ID: 2MGY) в 2D-проекции.

свидетельствуют об их перспективности для разработки в качестве потенциальных лекарственных соединений. Все они по данным теста Эймса (за исключением соединения ГМЛ-104)

и по расчетам острой токсичности у крыс при пероральном введении показали полное отсутствие этих видов токсичности (значения “— — —” и “— —”).

Синтез 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамидов. Сконструированные соединения общей

формулы (I) были получены в соответствии со схемой 1.



ГМЛ-12: $R^1 = R^2 = (CH_2)_2CH_3$

ГМЛ-101: $R^1 = C_2H_5$; $R^2 = CH_2Ph$

ГМЛ-102: $R^1 = H$; $R^2 = CHPh_2$

ГМЛ-103: $R^1 = R^2 = CH_2Ph$

ГМЛ-104: $R^1 = H$; $R^2 = (CH_2)_2Ph(OCH_3)_{2-3,4}$

ГМЛ-105: $R^1 = H$; $R^2 = CH_2Ph(OCH_3)_{3-3,4,5}$

ГМЛ-106: $R^1 = H$; $R^2 = L-Phe-OCH_3$

ГМЛ-107: $R^1 = R^2 = (CH_2)_7$

ГМЛ-108: $R^1 = H$; $R^2 = L-Glu-OC_2H_5$

ГМЛ-109: $R^1 = H$; $R^2 = L-Asp-OC_2H_5$

ГМЛ-110: $R^1 = H$; $R^2 = L-Ala-OCH_3$

ГМЛ-111: $R^1 = H$; $R^2 = L-Trp-OC_2H_5$

ГМЛ-112: $R^1 = H$; $R^2 = D-Tyr-OC_2H_5$

ГМЛ-113: $R^1 = H$; $R^2 = L-Phe-OH$

Схема 1. Синтез 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамидов.

Исходную 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоновую кислоту (II) получали в соответствии со схемой, представленной в патенте RU 2572076 С2 [13]. Эту кислоту (II) вводили во взаимодействие с аминами (III) в хлористом метиле в присутствии конденсирующих агентов – 1-гидроксибензотриазола и 1,3-дициклогексилкарбодиимида, в результате чего были получены целевые 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамиды (I). Структуры синтезированных соединений общей формулы (I) представлены на рис. 3 и 4, а заместители при амидной группе указаны в табл. 1 и 2.

Строение соединений общей формулы (I) подтверждено данными спектров 1H -ЯМР, а их чистота – данными элементного анализа.

Влияние новых соединений на поведение мышей линии Balb/c в условиях эмоционально-стрессового воздействия в тесте “открытое поле”. В работе применена методика освещенного “открытого поля” (ОП), при котором перенос животного из темноты на ярко подсвеченную арену, помимо реакции на новую обстановку, включает дополнительный стрессорный фактор, основанный на естественном стремлении грызунов избегать ярко освещенных мест [19]. В качестве тест-системы были использованы мыши инбредной линии Balb/c, характеризующейся реакцией замиранья в тесте ОП использованной модификации [20]. О наличии анксиолитического действия судили по выявлению активирующего влияния на двигательную активность у животных с реакцией замиранья.

В тесте ОП анализировали активность следующих соединений: ГМЛ-12, ГМЛ-101–ГМЛ-106 (табл. 3).

В условиях эмоционально-стрессового воздействия в тесте ОП при внутрибрюшинном введении соединений ГМЛ-12 (0.1, 0.5 и 1.0 мг/кг), ГМЛ-101 (1.0 мг/кг), ГМЛ-102 (0.1, 0.5 и 1.0 мг/кг) и ГМЛ-106 (1.0 и 5.0 мг/кг) обнаружено статистически значимое повышение общей двигательной активности мышей линии Balb/c по сравнению с контролем, обусловленное, прежде всего, повышением периферической активности и, в некоторых случаях, центральной активности. У соединения ГМЛ-103 в дозах 0.1–5.0 мг/кг статистически значимых изменений двигательной активности не выявлено. В то же время у соединений ГМЛ-101 в дозах 0.1–0.5 и 5.0 мг/кг, ГМЛ-102 в дозе 5.0 мг/кг, ГМЛ-104 (0.1–5.0 мг/кг) и ГМЛ-105 (0.1–1.0 мг/кг) наблюдалась тенденция к увеличению активности.

Таким образом, в ряду изученных потенциальных TSPО-лигандов соединения ГМЛ-12 и ГМЛ-102 в широком диапазоне доз (0.1–1.0 мг/кг) при внутрибрюшинном введении обладают выраженным активирующим действием у мышей Balb/c за счет увеличения периферической и центральной двигательной активности, что характерно для соединений, обладающих анксиолитическим действием. Соединение ГМЛ-101 также проявляло значимую активность в дозе 1.0 мг/кг, а соединение ГМЛ-106 – в дозах 1.0–5.0 мг/кг.

На основании полученных данных в качестве соединения-лидера было отобрано соединение ГМЛ-102, которое дополнительно было исследо-

Таблица 3. Влияние соединений ГМЛ-12 и ГМЛ-101–ГМЛ-106 на поведение мышей линии Valb/c в тесте “открытое поле”

Соединение	Доза, мг/кг	ПА	ЦА	Ц	ВА	ОДА	Д
Контроль для ГМЛ-12	–	11.27 (6.86)	2.00 (2.65)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	13.27 (9.16)	1.64 (1.50)
ГМЛ-12	0.1	22.88 (14.78)*	2.25 (1.58)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	25.13 (13.76)*	2.00 (0.76)
	0.5	20.38 (5.55)*	2.00 (1.69)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	22.38 (6.19)*	2.38 (2.67)
	1.0	34.38 (12.09)*	10.38 (7.48)*	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	44.75 (15.82)*	1.63 (1.51)
	5.0	20.00 (10.85)	1.88 (2.42)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	21.88 (10.16)	1.75 (1.39)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.029	0.021	1	1	0.002	0.854
Контроль для ГМЛ-101–ГМЛ-106	–	22.00 (9.40)	2.13 (2.36)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	24.13 (10.97)	0.63 (0.74)
ГМЛ-101	0.1	34.38 (19.99)	3.88 (2.42)	0.00 (0.00)	0.88 (1.36)	39.13 (21.05)	1.00 (1.31)
	0.5	31.88 (20.79)	3.25 (4.59)	0.13 (0.35)	0.13 (0.35)	35.38 (21.86)	0.50 (0.76)
	1.0	58.88 (14.63)*	0.13 (0.35)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	59.00 (14.62)*	0.63 (0.74)
	5.0	34.75 (27.76)	3.25 (9.19)	0.50 (1.41)	0.00 (0.00)	38.50 (25.07)	0.25 (0.46)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.0212	0.0123	0.5445	0.0091	0.0232	0.7131
ГМЛ-102	0.1	41.63 (10.34)*	4.38 (3.66)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	46.00 (13.69)*	1.25 (1.04)
	0.5	48.88 (10.83)*	10.25 (10.53)*	1.00 (2.07)	0.38 (0.52)	60.50 (15.01)*	1.00 (1.07)
	1.0	49.00 (12.33)*	7.38 (6.72)	0.13 (0.35)	1.25 (2.38)	57.75 (16.27)*	1.00 (1.07)
	5.0	27.00 (9.02)	1.13 (2.10)	0.00 (0.00)	0.13 (0.35)	28.25 (9.92)	1.25 (1.04)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.0001	0.0062	0.0535	0.0366	0	0.6953
ГМЛ-103	0.1	21.25 (12.52)	0.13 (0.35)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	21.38 (12.77)	0.88 (1.13)
	0.5	21.00 (8.64)	0.13 (0.35)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	21.13 (8.68)	0.50 (0.76)
	1.0	20.63 (7.95)	0.13 (0.35)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	20.75 (7.92)	0.88 (0.99)
	5.0	19.50 (7.58)	0.25 (0.46)	0.25 (0.46)	0.00 (0.00)	20.00 (8.04)	0.50 (0.76)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.9945	0.0383	0.0842	1	0.9658	0.8721
ГМЛ-104	0.1	27.13 (9.51)	4.75 (3.15)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	31.88 (8.17)	1.50 (1.07)
	0.5	29.75 (11.89)	3.13 (4.19)	0.38 (1.06)	0.50 (1.07)	33.75 (16.39)	1.13 (1.13)
	1.0	25.25 (10.02)	6.25 (9.32)	0.63 (1.19)	0.00 (0.00)	32.13 (18.51)	0.75 (0.89)
	5.0	29.88 (21.80)	3.63 (8.67)	0.00 (0.00)	1.13 (3.18)	34.63 (33.36)	1.00 (1.20)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.7003	0.3697	0.2372	0.2446	0.5328	0.502
ГМЛ-105	0.1	32.88 (13.28)	3.13 (3.87)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	36.00 (15.24)	1.38 (1.41)
	0.5	38.88 (21.92)	0.38 (0.74)	0.00 (0.00)	0.25 (0.46)	39.50 (22.54)	2.50 (1.20)*
	1.0	32.63 (14.93)	2.25 (3.81)	0.25 (0.71)	0.00 (0.00)	35.13 (13.05)	1.88 (1.96)
	5.0	23.25 (7.63)	0.50 (0.53)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	23.75 (7.54)	1.88 (1.96)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.1779	0.1343	0.406	0.0842	0.1608	0.082
ГМЛ-106	0.1	21.13 (11.01)	0.25 (0.46)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	21.38 (10.76)	1.00 (1.07)
	0.5	27.50 (7.63)	7.63 (9.46)	0.63 (1.06)	0.00 (0.00)	35.75 (14.75)	0.88 (0.83)
	1.0	36.00 (10.61)*	4.13 (3.44)	0.25 (0.46)	0.00 (0.71)	40.63 (13.76)*	2.13 (1.81)
	5.0	39.00 (6.91)*	9.13 (11.80)	0.75 (1.49)	0.00 (0.00)	48.88 (13.21)*	1.63 (1.41)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.0041	0.0472	0.2	0.406	0.0024	0.2645

Примечание: данные представлены в виде M (SD), где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение. *p* (ANOVA) – *p*-значение по результатам теста Краскела–Уоллеса. Сокращения: ПА – число пересеченных квадратов на периферии, ЦА – число пересеченных квадратов в центральных областях, Ц – число заходов в центр, ВА – число вертикальных стоек, ОДА – общая двигательная активность, Д – количество дефекаций.

* Статистически значимые различия (*p* < 0.05) по сравнению с контрольной группой согласно критерию Манна–Уитни.

вано в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ).

Влияние новых соединений на поведение мышей ICR в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт”. В тесте ПКЛ были исследованы следующие соединения: ГМЛ-107–ГМЛ-113 и ГМЛ-102 (табл. 4). Оценку поведения мышей в тесте ПКЛ проводили согласно методике Fellow et al. [21]. Установлено, что в тесте ПКЛ соединение ГМЛ-107 в дозе 0.1 мг/кг при внутрибрюшинном введении статистически значимо увеличивала время пребывания мышей ICR в открытых рукавах лабиринта, время (%) пребывания в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах ($T_{\text{откр}}/T_{\text{общ}}$) и число (%) заходов в открытые рукава по отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта ($N_{\text{откр}}/N_{\text{общ}}$) по сравнению с контрольной группой, что рассматривается как основной критерий анксиолитической активности. Тенденция к увеличению параметров $T_{\text{откр}}/T_{\text{общ}}$ и $N_{\text{откр}}/N_{\text{общ}}$ наблюдалась для соединения ГМЛ-107 в дозах 0.5–5.0 мг/кг. Соединение ГМЛ-113 также обладало эффектом в дозах 0.5–5.0 мг/кг, достоверно увеличивая значения обоих параметров $T_{\text{откр}}/T_{\text{общ}}$ и $N_{\text{откр}}/N_{\text{общ}}$. Бензгидрильное производное ГМЛ-102, наиболее активное в тесте ОП, было эффективным и в тесте ПКЛ по параметрам $T_{\text{откр}}/T_{\text{общ}}$ и $N_{\text{откр}}/N_{\text{общ}}$ во всех исследуемых дозах (0.1–5.0 мг/кг).

Соединения ГМЛ-108 и ГМЛ-110 ни в одной из изученных доз не влияли на поведение аутбредных мышей ICR в тесте ПКЛ, за исключением того, что в дозе 5.0 мг/кг ГМЛ-108 увеличивало время пребывания мышей в закрытых рукавах лабиринта.

Соединения ГМЛ-109 и ГМЛ-112 в дозе 1.0 мг/кг и соединение ГМЛ-111 в дозе 0.5 мг/кг статистически значимо по сравнению с контрольной группой уменьшали время пребывания мышей ICR в открытых рукавах лабиринта, число заходов в открытые рукава, время (%) пребывания в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах ($T_{\text{откр}}/T_{\text{общ}}$) и число (%) заходов в открытые рукава по отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта ($N_{\text{откр}}/N_{\text{общ}}$). Снижение двигательной и исследовательской активности мышей в тесте ПКЛ на фоне применения указанных соединений может свидетельствовать о наличии в спектре их фармакологической активности седативного или анксиогенного компонента, что необходимо исследовать с использованием соответствующих методов анализа поведения. Результаты настоящей работы определяют перспективу дальнейшего развернутого фармакологического изучения полученных новых оригинальных соединений.

Анализ связи “структура–активность”. В табл. 5 приведено соотношение результатов оценки анксиолитической активности новых соединений *in vivo* с основными расчетными параметрами: Docking score (характеристика энергии связывания “лиганд–рецептор” в молекулярном докинге), липофильностью (LogP), общей оценкой ADMET-профиля и показателем проникновения через гематоэнцефалический барьер (LogBB).

Хотя полной корреляции между перечисленными параметрами по результатам исследования не наблюдалось, отмечаются определенные закономерности по взаимосвязи биологической активности *in vivo* с расчетными показателями. Так, в частности, соединения, показавшие наличие анксиолитической активности, обладали в целом более высокими значениями Docking score (DS). Среднее значение DS составляет –9.62 для активных соединений (ГМЛ-12, ГМЛ-101, ГМЛ-102, ГМЛ-104–ГМЛ-107, ГМЛ-113) и –9.15 для неактивных соединений (ГМЛ-103 и ГМЛ-108–ГМЛ-112). Сходная зависимость наблюдается для показателя липофильности (LogP). Среднее значение LogP в ряду активных соединений составляло 5.16, в то время как для соединений, не показавших положительного эффекта, LogP составляло 4.77. Среди ADMET-показателей особую значимость в отношении наличия положительного эффекта *in vivo* показал параметр LogBB, характеризующий способность соединения проникать через гематоэнцефалический барьер. Установлено, что у соединений, проявивших анксиолитическое действие, среднее значение LogBB составило –0.33. У неактивных молекул среднее LogBB составляет –0.90, т.е. их способность проникать через гематоэнцефалический барьер существенно ниже. При исключении из расчетов соединений ГМЛ-103 и ГМЛ-113, выбывающих из общей закономерности, различие в средних значениях LogBB для активных и неактивных соединений еще более выражено (–0.23 против –1.06). Эти результаты хорошо согласуются с тем фактом, что для достижения положительного анксиолитического действия соединение должно иметь способность в достаточной степени проникать через гематоэнцефалический барьер.

Лучшие результаты по биологической активности продемонстрировало бензгидрильное производное ГМЛ-102, показавшее наличие анксиолитического действия в широком интервале доз в обоих используемых тестах (ОП и ПКЛ). Это соединение имеет одни из лучших расчетных параметров: значение $DS = -9.551$; высокую липофильность (LogP = 6.506); подходящее значение $LogBB = -0.209$. Активным также были диалкильное и циклоалкильное производные ГМЛ-12 и ГМЛ-107 с высокими значениями LogBB (–0.223 и 0.096 соответственно). Для алкоксиарилалкильных соединений ГМЛ-104 и ГМЛ-105 отмечается

Таблица 4. Влияние соединений ГМЛ-102 и ГМЛ-107–ГМЛ-113 на поведение аутирных мышей ICR в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт”

Соединение	Доза, мг/кг	Время в открытых лаважах, с	Время в закрытых лаважах, с	Число заходов в открытые лавава	Число заходов в закрытые лавава	$T_{откр}/(T_{откр} + T_{закр}), \%$	$N_{откр}/(N_{откр} + N_{закр}), \%$
Контроль для ГМЛ-107–ГМЛ-112	–	23 (4; 33)	72 (68; 83)	4 (1; 5)	10 (8; 12)	22 (4; 33)	28 (5; 35)
	0.1	46 (29; 55)*	81 (58; 86)	4 (3; 8)	7 (7; 10)	37 (28; 44)*	36 (32; 43)*
	0.5	19 (0; 31)	48 (19; 85)	4 (0; 7)	7 (4; 10)*	17 (2; 38)	33 (6; 41)
	1.0	46 (2; 53)	47 (33; 90)	7 (0; 11)	9 (8; 10)	41 (8; 51)	42 (10; 57)
	5.0	13 (7; 21)	60 (25; 66)*	3 (2; 5)	9 (4; 11)	23 (11; 41)	34 (16; 42)
ГМЛ-108	<i>p</i> (ANOVA)	0.0482	0.1797	0.5636	0.2152	0.1019	0.1974
	0.1	4 (0; 9)	99 (52; 135)	1 (0; 2)	12 (8; 14)	4 (0; 14)	10 (0; 14)
	0.5	10 (1; 28)	86 (72; 111)	2 (0; 5)	12 (8; 14)	10 (1; 24)	22 (3; 29)
	1.0	10 (1; 29)	84 (62; 108)	2 (0; 5)	10 (8; 11)	10 (1; 23)	18 (2; 34)
	5.0	17 (4; 31)	98 (82; 137)*	2 (0; 4)	10 (8; 12)	19 (3; 24)	18 (2; 27)
ГМЛ-109	<i>p</i> (ANOVA)	0.6052	0.3363	0.7266	0.779	0.4242	0.3671
	0.1	6 (1; 31)	56 (45; 68)*	2 (0; 4)	8 (6; 10)	10 (2; 22)	19 (3; 37)
	0.5	0 (0; 9)	73 (32; 105)	0 (0; 3)	11 (6; 14)	0 (0; 18)	0 (0; 27)
	1.0	0 (0; 5)*	97 (71; 125)	0 (0; 1)*	11 (8; 13)	0 (0; 5)*	0 (0; 13)*
	5.0	39 (2; 75)	70 (47; 91)	4 (1; 9)	9 (5; 11)	35 (2; 44)	33 (4; 52)
ГМЛ-110	<i>p</i> (ANOVA)	0.0363	0.0896	0.0646	0.3588	0.0341	0.0648
	0.1	6 (0; 31)	74 (46; 111)	2 (0; 5)	9 (6; 10)	8 (0; 21)	15 (0; 35)
	0.5	5 (0; 35)	95 (44; 109)	1 (0; 5)	13 (3; 15)	11 (0; 33)	14 (0; 33)
	1.0	3 (0; 11)	47 (2; 91)	1 (0; 3)	5 (1; 11)	4 (0; 24)	9 (0; 39)
	5.0	5 (0; 27)	90 (78; 100)	2 (0; 3)	9 (8; 12)	6 (0; 23)	12 (3; 30)
<i>p</i> (ANOVA)	0.7439	0.2865	0.8068	0.236	0.7638	0.8965	

Таблица 4. Окончание

Соединение	Доза, мг/кг	Время в открытых рукавах, с	Время в закрытых рукавах, с	Число заходов в открытые рукава	Число заходов в закрытые рукава	$T_{откр} / (T_{откр} + T_{закр})$, %	$N_{откр} / (N_{откр} + N_{закр})$, %
ГМЛ-111	0.1	0 (0; 3)	45 (25; 61)**	0 (0; 1)*	6 (4; 8)**	0 (0; 5)	0 (0; 11)
	0.5	0 (0; 8)*	85 (50; 98)	0 (0; 1)*	10 (6; 11)	0 (0; 7)*	0 (0; 10)*
	1.0	9 (0; 44)	85 (67; 98)	3 (0; 6)	12 (8; 15)	10 (0; 32)	24 (0; 29)
	5.0	10 (0; 50)	86 (59; 113)	2 (0; 7)	11 (7; 14)	8 (0; 44)	14 (2; 44)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.0969	0.0291	0.0803	0.0241	0.1029	0.0864
ГМЛ-112	0.1	3 (0; 13)	71 (39; 101)	1 (0; 2)	8 (7; 9)	2 (0; 14)	5 (0; 17)
	0.5	13 (7; 37)	80 (63; 91)	3 (1; 6)	10 (8; 12)	16 (8; 31)	19 (6; 37)
	1.0	0 (0; 2)*	53 (33; 80)	0 (0; 1)*	7 (3; 8)**	0 (0; 3)*	0 (0; 13)*
	5.0	0 (0; 5)	55 (25; 98)	0 (0; 2)	6 (3; 13)	0 (0; 7)	0 (0; 15)
	<i>p</i> (ANOVA)	0.0225	0.3859	0.0582	0.0126	0.0261	0.0961
Контроль для ГМЛ-102 и ГМЛ-113	–	1 (0; 6)	166 (145; 172)	0.5 (0; 1)	11 (9.5; 15)	0.7 (0; 3.7)	4.6 (0; 10)
	0.1	48 (31; 57)*	164 (159; 176)	4 (2; 6)*	10 (8; 12)	22 (16; 26)*	23 (18; 42)*
	0.5	21 (18; 34)*	163 (155; 173)	3 (2; 4)*	10 (9; 11)	11 (10; 17)*	21 (16; 28)*
	1.0	50 (37; 60)*	165 (156; 171)	4 (3; 6)*	10 (9; 11)	24 (18; 26)*	30 (20; 35)*
	5.0	18 (14; 30)*	166 (152; 173)	3 (2; 4)*	9 (8; 11)*	10 (8; 15)*	23 (19; 32)*
<i>p</i> (ANOVA)	0	0.9561	0.0009	0.3831	0.0001	0.0001	0.002
ГМЛ-113	0.1	0 (0; 2)	186 (171; 197)*	0 (0; 0.5)	12 (11; 14)	0 (0; 0.8)	0 (0; 4)
	0.5	10 (5; 20)*	162 (138; 183)	2 (1; 4)*	12 (10; 12)	5 (3; 10)*	15 (9; 24)*
	1.0	43 (27; 89)*	134 (108; 141)*	4 (3; 5)*	12 (10; 13)	24 (15; 48)*	24 (18; 36)*
	5.0	49 (33; 63)*	146 (123; 163)	4 (3; 6)*	12 (9; 14)	24 (17; 32)*	28 (15; 37)*
	<i>p</i> (ANOVA)	0	0.0021	0.0001	0.8405	0	0.0002

Примечания: данные представлены в виде Me (q_{25} ; q_{75}), где Me – медиана, q_{25} – нижний квартиль, q_{75} – верхний квартиль, p (ANOVA) – p -значение согласно критерию Краскела–Уоллиса; $T_{откр}$ и $T_{закр}$ – время пребывания в открытых и закрытых рукавах; $N_{откр}$ и $N_{закр}$ – число заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта. * $p < 0.05$ (достоверные различия с контролем согласно критерию Манна–Уитни). ** $p < 0.01$ (достоверные различия с контролем согласно критерию Манна–Уитни).

Таблица 5. Соотнесение расчетных характеристик с результатами оценки анкиолигитической активности исследованных соединений *in vivo*

Соединение	Амидный заместитель	Эфир	Docking score	LogP	Профиль ADMET	LogBB	Активные дозы в тестах ОП и ПКЛ, мг/кг	Выраженность эффекта
ГМЛ-12	Rt, Pr	–	–8.999	4.826	+	–0.223	0.1–1.0 (ОП)	++
ГМЛ-101	Et, Bz	–	–10.144	5.433	+	–0.045	1.0 (ОП); т.: 0.1–0.5 и 5.0 (ОП)	+
ГМЛ-102	CNP _{h2}	–	–9.551	6.506	+	–0.209	0.1–1.0 (ОП); 0.1–5.0 (ПКЛ)	++++
ГМЛ-103	Bz, Bz	–	–9.278	5.993	+	–0.112	– (ОП)	0
ГМЛ-104	(CH ₂) ₂ Ph(OMe) ₂ -3,4	–	–9.404	5.032	+	–0.222	т.: 0.1–5.0 (ОП)	т.+
ГМЛ-105	CH ₂ Ph(OMe) ₃ -3,4,5	–	–9.391	4.786	+	–0.335	т.: 0.1–1.0 (ОП)	т.+
ГМЛ-106	L-Phe	Me	–10.208	5.163	+	–0.676	1.0–5.0 (ОП)	++
ГМЛ-107	–(CH ₂) ₇ –	–	–9.193	4.398	+	0.096	0.1 (ПКЛ); т.: 0.5–5.0 (ПКЛ)	+
ГМЛ-108	L-Glu	Et	–9.125	4.310	+	–1.027	– (ПКЛ)	0
ГМЛ-109	L-Asp	Et	–9.603	4.001	+	–1.325	[1.0] (ПКЛ)	–
ГМЛ-110	L-Ala	Me	–8.726	3.689	+	–0.751	– (ПКЛ)	0
ГМЛ-111	L-Trp	Et	–8.083	5.743	+	–0.954	[0.5] (ПКЛ)	–
ГМЛ-112	D-Tyr	Et	–10.119	4.874	+	–1.240	[1.0] (ПКЛ)	–
ГМЛ-113	L-Phe	–	–10.095	5.126	+	–1.043	0.5–5.0 (ПКЛ)	++

Примечания: Docking score – характеристика энергии связывания “лиганд–рецептор” в молекулярном докинге; LogP – показатель липофильности на разделе фаз октанол/вода; LogBB – величина, характеризующая способность вещества проникать через ГЭБ; ОП – тест “открытое поле”; ПКЛ – тест “приподнятый крестообразный лабиринт”. В квадратных скобках приведена доза, проявляющая обратную активность. Указана выраженность эффекта соединений: тенденция (т.), активность в одной дозе (+), активность в нескольких дозах (++) , активность в нескольких дозах в двух тестах (++++), обратная активность (–), отсутствие эффекта (0).

лишь тенденция к наличию активности. Большинство аминокислотных производных показали отсутствие активности или даже анксиогенное действие. В ряду этих соединений были наименьшие значения LogBB (от -1.325 до -0.676). Исключением стали производные фенилаланина ГМЛ-106 и ГМЛ-113. Оба этих соединения обладали анксиолитическим эффектом в нескольких дозах. Возможно, это обусловлено включением какой-либо дополнительной биологической мишени в механизм их действия.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование. Для определения физико-химических характеристик полученных соединений использовали следующее оборудование: температуру плавления определяли на приборе Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, США) в открытых капиллярах без корректировки; строение целевых и промежуточных соединений устанавливали методами одномерной ^1H - , ^{13}C - и двумерной (COSY – гомоядерная корреляция, HSQC – гетероядерная одноквантовая корреляция) ЯМР-спектроскопии. Спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР регистрировали в шкале δ , м.д. на спектрометре FOURIER 300 HD (Bruker Corporation, Германия; 300 и 75 МГц для ядер ^1H - и ^{13}C соответственно) в растворах $\text{DMSO}-d_6$ и CDCl_3 , внутренний стандарт тетраметилсилан (0 м.д.). Константа спин-спинового взаимодействия J , Гц. Для обозначения резонансных сигналов использовали следующие сокращения: с – синглет, д – дублет, т – триплет, м – мультиплет. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) выполняли на стеклянных силикагелевых пластинах DC Kieselgel 60 G/F₂₅₄ (Merck, Германия) с обнаружением в УФ-свете.

Молекулярный докинг. Молекулярный докинг проводили с использованием структуры TSPO в комплексе с селективным лигандом РК-11195 (PDB ID: 2MGY) в программе Glide v8.1 (<https://www.schrodinger.com/products/glide>).

Пространственную структуру рецептора TSPO подготавливали с помощью Schrodinger Protein Preparation Wizard (<https://www.schrodinger.com/science-articles/protein-preparation-wizard>) с использованием стандартного протокола [17]. Конформации лигандов рассчитывали в программе LigPrep (<https://www.schrodinger.com/products/ligprep>). Координаты сетки (x 5.65; y 4.66; z 5.91; 20 Å) отцентровывали по лиганду. Стыковку выполняли в программе Glide v8.1 с использованием стандартного протокола [16]. Позы визуализировали в Maestro 11.8 (<https://www.schrodinger.com/products/maestro>), LogP рассчитывали в MarvinSketch 20.1 (ChemAxon Ltd., Венгрия). Для проверки протокола докинга рассчитывали среднеквадратичное отклонение положений атомов (RMSD) между исходным лиган-

дом РК-11195 в белке TSPO и повторно состыкованным подготовленным РК-11195 в сетке. Значение RMSD составило 1.97 Å, что позволило использовать этот протокол для прогнозирования связывания новых лигандов TSPO.

Общая методика получения 1-фенил-пирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамидов (I). Раствор 2.2 ммоль (0.2 г) аминокислотного соединения, 2.0 ммоль (0.48 г) 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоновой кислоты и 2.2 ммоль (0.30 г) 1-гидроксибензотриазола в 20 мл хлористого метилена охлаждали до 0°C. К нему добавляли раствор 2.4 ммоль (0.50 г) 1,3-дициклогексилкарбодиимида в 10 мл хлористого метилена, смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин. Выпавший осадок отфильтровывали, фильтрат промывали 2 раза по 20 мл воды, сушили сульфатом натрия и упаривали досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата и гексана (1 : 1). Нужные фракции собирали и упаривали досуха, остаток перекристализовывали из этанола.

1-Фенил-*N,N*-дипропилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамид (ГМЛ-12). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоновой кислоты и дипропиламина. Выход 70%, светло-желтые кристаллы. Т. пл. 104–106°C. Найдено (%): С, 74.88; Н, 7.22; N, 12.90. $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}$. Вычислено (%): С, 74.74; Н, 7.21; N, 13.07. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 0.82, 1.00 (два т, по 3H, 2CH₃, J 6.9); 1.76 (м, 4H, 2CH₂CH₃); 3.49, 3.68 (два т, по 2H, CH₂NCH₂, J 7.3); 6.97 (м, 1H, H(8)); 7.00 (м, 1H, H(7)); 7.49–7.59 (м, 4H, 3PhH, H(6)); 7.96–8.03 (м, 2H, 2PhH); 8.45 (с, 1H, H(4)).

***N*-Бензил-*N*-этил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамид (ГМЛ-101).** Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоновой кислоты и *N*-бензил-*N*-этиламина. Выход 80%, бледно-серый порошок. Т. пл. 116–118°C. Найдено (%): С, 76.83; Н, 6.12; N, 11.98. $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$. Вычислено (%): С, 77.72; Н, 5.96; N, 11.82. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 1.27 (два т, по 3H, 2CH₃, 3J 7.1); 3.73 (м, 2H, CH₂–CH₃); 4.95 (два с, 2H, CH₂–Ph); 6.98 (м, 1H, H(8)); 7.01 (м, 1H, H(7)); 7.27–8.01 (м, 11H, 2Ph, H(6)); 8.54 (с, 1H, H(4)).

***N*-Бензгидрил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамид (ГМЛ-102).** Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоновой кислоты и бензгидриламина. Выход 85%, желто-серые игольчатые кристаллы. Т. пл. 150–152°C. Найдено (%): С, 80.67; Н, 5.63; N, 10.26. $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$. Вычислено (%): С, 80.37; Н, 5.25; N, 10.41. Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3): 6.53 (м, 1H, CH); 7.00 (м, 1H, H(8)); 7.04 (м, 1H, H(7)); 7.27–7.55 (м, 16H, 3Ph, H(6)); 7.97 (м, 1H, NH); 8.78 (м, 1H, H(4)).

***N,N*-Дибензил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамид (ГМЛ-103).** Получали из 1-фенил-

пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и дибензиламина. Выход 70%, желтый порошок. Т. пл. 115–116°C. Найдено (%): С, 80.52; Н, 5.23; N, 10.12. C₂₈H₂₃N₃O. Вычислено (%): С, 80.55; Н, 5.55; N, 10.06. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 4.74 (м, 2H, CH₂); 5.17 (м, 2H, CH₂); 6.99 (м, 1H, H(8)); 7.02 (м, 1H, H(7)); 7.36–7.93 (м, 16H, 3Ph, H(6)); 8.64 (с, 1H, H(4)).

1-Фенил-N-(3,4-диметоксифенилэтил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (ГМЛ-104). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и 3,4-диметоксифенилэтиламина. Выход 90%, светло-желтый порошок. Т. пл. 160–163°C. Найдено (%): С, 71.85; Н, 5.68; N, 10.52. C₂₄H₂₃N₃O₃. Вычислено (%): С, 71.80; Н, 5.77; N, 10.47. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 2.91 (м, 2H, CH₂); 3.74 (м, 2H, CH₂); 3.88 (м, 6H, 2CH₃); 6.83 (м, 3H, Ph); 6.99 (м, 1H, H(8)); 7.04 (м, 1H, H(7)); 7.27–8.15 (м, 11H, 2Ph, H(6)); 8.74 (с, 1H, H(4)).

1-Фенил-N-(3,4,5-триметоксибензил)пирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (ГМЛ-105). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и 3,4,5-триметоксибензиламина. Выход 80%, светло-желтый порошок. Т. пл. 180–183°C. Найдено (%): С, 69.27; Н, 5.72; N, 10.19. C₂₄H₂₃N₃O₄. Вычислено (%): С, 69.05; Н, 5.55; N, 10.07. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 3.87 (м, 9H, 3CH₃); 4.65 (м, 2H, CH₂); 6.62 (м, 2H, Ar); 7.02 (м, 1H, H(8)); 7.04 (м, 1H, H(7)); 7.27–8.03 (м, 6H, Ph, H(6)); 8.81 (с, 1H, H(4)).

Метилловый эфир L-3-фенил-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид)пропановой кислоты (ГМЛ-106). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и L-фенилаланина. Выход 85%, карамельные кристаллы. Т. пл. 120–121°C. Найдено (%): С, 72.12; Н, 5.42; N, 10.56. C₂₄H₂₁N₃O₃. Вычислено (%): С, 72.17; Н, 5.30; N, 10.52. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 3.27 (м, 2H, CH₂); 3.75 (три с, 3H, CH₃); 5.10 (м, 1H, CH); 6.99 (м, 1H, H(8)); 7.06 (м, 1H, H(7)); 7.55–7.95 (м, 11H, 2Ph, H(6)); 8.44 (м, 1H, NH); 8.71 (с, 1H, H(4)).

Азепан-1-ил(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-ил)метанон (ГМЛ-107). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и азепана. Выход 85%, карамельные кристаллы. Т. пл. 92–93°C. Найдено (%): С, 75.35; Н, 6.72; N, 13.12. C₂₀H₂₁N₃O. Вычислено (%): С, 75.21; Н, 6.63; N, 13.16. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1.65 (с, 2H, CH₂CH₂); 1.86 (м, 2H, CH₂–CH₂); 3.71 (м, 2H, CH₂–N); 3.86 (м, 2H, CH₂–N); 6.97 (м, 1H, H(8)); 6.99 (м, 1H, H(7)); 7.52–7.97 (м, 6H, Ph, H(6)); 8.4 (с, 1H, H(4)).

Диэтиловый эфир L-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидо)пентандионовой кисло-

ты (ГМЛ-108). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и диэтилового эфира L-глутаминовой кислоты. Выход 65%, карамельные кристаллы. Т. пл. 59–60°C. Найдено (%): С, 65.30; Н, 5.98; N, 9.83. C₂₃H₂₅N₃O₅. Вычислено (%): С, 65.24; Н, 5.95; N, 9.92. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1.20–1.30 (м, 6H, 2CH₃); 2.00–2.40 (м, 4H, 2CH₂–CH₃); 4.09–4.11 (м, 2H, CH₂–C(O)); 4.25–4.27 (м, 2H, CH₂–CH₂); 7.00–7.06 (д, 2H, H(8), H(7), J 3.46); 7.55–8.00 (м, 6H, Ph, H(6)); 8.74 (с, 1H, H(4)).

Диэтиловый эфир L-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидо)бутандионовой кислоты (ГМЛ-109). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и диэтилового эфира L-аспарагиновой кислоты. Выход 78%, желтые кристаллы. Т. пл. 42–43°C. Найдено (%): С, 64.30; Н, 5.74; N, 10.13. C₂₂H₂₃N₃O₅. Вычислено (%): С, 64.54; Н, 5.66; N, 10.26. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1.24–1.30 (м, 6H, 3CH₃); 3.01–3.11 (дд, 4H, CH₂–C(O), J₁ 6.25, J₂ 7.20); 5.09–5.12 (м, 1H, CH–NH), 7.99–7.06 (д, 2H, H(8), H(7), J 3.46); 7.53–8.04 (м, 6H, Ph, H(6)); 8.74–8.75 (с, 1H, H(4)).

Метилловый эфир L-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидо)пропановой кислоты (ГМЛ-110). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и метилового эфира L-аланина. Выход 90%, желтые кристаллы. Т. пл. 128–130°C. Найдено (%): С, 66.79; Н, 5.74; N, 13.14. C₁₈H₁₇N₃O₃. Вычислено (%): С, 66.86; Н, 5.30; N, 13.00. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1.57 (д, 3H, CH₃, J 6.00); 3.80 (с, 3H, OCH₃); 4.82–4.91 (м, 1H, CH–NH), 7.04–7.00 (м, 2H, H(8), H(7)); 7.55–8.43 (м, 6H, Ph, H(6)); 8.75 (с, 1H, H(4)).

Этиловый эфир L-3-(1H-индол-3-ил)-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидо)пропановой кислоты (ГМЛ-111). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и этилового эфира L-триптофана. Выход 80%, желтые кристаллы. Т. пл. 71–72°C. Найдено (%): С, 71.65; Н, 5.74; N, 12.40. C₂₇H₂₄N₄O₃. Вычислено (%): С, 71.67; Н, 5.35; N, 12.38. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1.24 (м, 3H, CH₃); 3.45 (м, 2H, CH₂–CH); 3.69 (м, 2H, CH₂–CH₃); 5.16 (м, 2H, CH–N); 7.01–7.84 (м, 13H, H(8), H(7), Indole, Ph); 8.54 (м, H(6)); 8.71 (с, 1H, H(4)).

Этиловый эфир D-3-(4-гидроксифенил)-2-(1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидо)пропановой кислоты (ГМЛ-112). Получали из 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоновой кислоты и этилового эфира D-тирозина. Выход 45%, желтые кристаллы. Т. пл. 174–176°C. Найдено (%): С, 69.95; Н, 5.36; N, 9.75. C₂₅H₂₃N₃O₄. Вычислено (%): С, 69.92; Н, 5.40; N, 9.78. Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃): 1.26 (м, 3H, CH₃); 3.15–3.17 (м,

2H, CH_2Ph); 3.72–3.75 (м, 1H, CH-N), 4.19–4.22 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.70–7.90 (м, 12H, H(8), H(7), 2Ph); 8.52–8.55 (м, H(6)); 8.67–8.68 (с, 1H, H(4)).

L-3-Фенил-2-(1-фенилпирроло[1,2-а]пиазин-3-карбоксамид)пропановая кислота (ГМЛ-113). Растворяли 8.03 ммоль (3.21 г) метилового эфира L-3-фенил-2-(1-фенилпирроло[1,2-а]пиазин-3-карбоксамид)пропановой кислоты (ГМЛ-106) в смеси этилового и изопропилового спирта, добавляли гидроксид калия в 20 мл воды и кипятили с обратным холодильником 2 ч. Нейтрализовали реакционную смесь лимонной кислотой и экстрагировали хлористым метиленом, затем упаривали досуха на ротаторном испарителе и перекристаллизовывали из этанола. Выход 1.71 г, 53.3%. Желтые кристаллы. Найдено (%): С, 71.45; Н, 5.16; N, 10.99. $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$. Вычислено (%): С, 71.68; Н, 4.97; N, 10.90. Спектр $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): 3.21 (м, 2H, CH_2); 4.52 (м, 1H, CH); 7.06 (м, 2H, H(7), H(8)); 7.20–8.05 (м, 11H, 2Ph, H(6)); 8.53 (м, 1H, NH); 8.97 (с, 1H, H(4)).

Животные. Животные (240 мышей-самцов линии Balb/c массой 19–25 г; 272 аутбредных мышей-самцов ICR массой 23–30 г) получены из питомника лабораторных животных “Пушино” при филиале Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова.

Животных содержали в условиях лабораторно-го вивария в контролируемых условиях окружающей среды (20–24°C и относительная влажность 45–65%, 12-часовой цикл освещения, 10-кратная смена объема воздуха комнаты в час) в пластмассовых клетках с верхней крышкой из нержавеющей стали с обеспыленной подстилкой из деревянной стружки, по 20 мышей в каждой клетке, при постоянном доступе к экструдированному брикетированному корму и питьевой воде. Животных распределяли по группам рандомизированно, по критерию массы тела, с отклонением от среднего значения не более 10%. Перед опытом животных выдерживали в экспериментальной комнате в “домашних” клетках в течение 24 ч.

Тест “открытое поле”. В исследовании использовали мышей-самцов линии Balb/c. Для введения исследуемых соединений готовили их суспензию с Tween-80 и дистиллированной водой (1% Tween-80) в концентрациях от 10 до 500 мкг/мл в зависимости от используемой дозы. Объем введения составлял 0.1 мл на 10 г веса для мышей и рассчитывался в соответствии с массой тела, регистрируемой перед введением препарата. Полученную смесь вводили мышам однократной внутрибрюшинной инъекцией. В каждой исследовательской группе было по 8 животных. Животным контрольных групп вводили 1%-ную суспензию Tween-80 в дистиллированной воде.

Через 30 мин после внутрибрюшинного введения соединения животное сначала помещали на

1 мин в темную камеру, а затем – на один из периферических квадратов “открытого поля” (Open Science, Россия), которое представляет из себя белую круглую арену диаметром 1 м с белыми бортами высотой 50 см. Освещение осуществляли бестеневыми лампами, расположенными на уровне 1 м над поверхностью поля. Уровень освещенности составлял 3000 люкс. Все пространство арены равномерно разделено четырьмя concentрическими окружностями, которые в свою очередь разбиты радиусами на сектора так, что периферическая окружность состоит из 16 одинаковых криволинейных квадратов. Наблюдение за животным проводили в течение 3 мин, отдельно фиксировали число пересеченных квадратов на периферии (ПА), в центральных областях (ЦА), число заходов в центр (Ц), а также число вертикальных стоек (ВА) и количество дефекаций (Д). Суммарное число пересеченных квадратов вместе с числом вертикальных стоек обозначали как общую активность (ОДА).

Тест “приподнятый крестообразный лабиринт”. Установка “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ) (Open Science, Россия) для мышей выполнена из поливинилхлорида серого цвета и представляет собой две взаимопересекающиеся под прямым углом горизонтальные дорожки 65×5 см. Два противоположных отсека имеют непрозрачные вертикальные стенки высотой 15 см. Лабиринт приподнят от пола на 40 см. В месте перекрестия плоскостей находится открытая центральная платформа 5×5 см.

Эксперимент проводили в условиях дневного освещения. В начале тестирования животное помещали в центр лабиринта, что давало возможность переместиться в темные либо светлые рукава лабиринта – в зависимости от преобладания тревоги (боязнь высоты, открытого пространства) или исследовательской активности (что побуждало животное выходить из “защищенных” рукавов).

Исследуемые соединения вводили внутрибрюшинно аутбредным мышам-самцам ICR в виде суспензии с Tween-80 и дистиллированной водой (1% Tween-80) в концентрациях от 10 до 500 мкг/мл в зависимости от используемой дозы. Объем введения составлял 0.1 мл на 10 г веса для мышей и рассчитывался в соответствии с массой тела, регистрируемой перед введением препарата. Животным контрольных групп вводили 1%-ную суспензию Tween-80 в дистиллированной воде. В каждой исследовательской группе было по 8 животных.

Оценку поведения мышей в тесте ПКЛ проводили согласно методике Pellow et al. [21] через 30 мин после введения соединений. Фиксировали следующие показатели поведения животных в ПКЛ в течение 300 с: время нахождения в откры-

тых рукавах, время нахождения в закрытых рукавах, число заходов в открытые рукава, число заходов в закрытые рукава, пребывание (в %) животных в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах лабиринта и число заходов (в %) в открытые рукава по отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку полученных в ОП и ПКЛ результатов проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (критерий Краскела–Уоллиса) и непараметрического анализа для независимых переменных (*U*-критерий Манна–Уитни, различия считали значимыми при $p < 0.05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезирована новая группа 1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамидов, в которых заместителями при амидном атоме азота выступают алкильные, бензильные или алкоксифенилалкильные группы, остатки аминокислот или их производные (всего 14 соединений). Показано, что синтезированные соединения имеют высокие теоретические значения аффинности по отношению к белку TSPO и благоприятный профиль ADMET-характеристик, что обуславливает их перспективность для разработки в качестве лекарственных средств.

У некоторых соединений в дозах 0.1–5.0 мг/кг при внутрибрюшинном введении в условиях эмоционально-стрессового воздействия в тесте “открытое поле” у мышей линии Valb/c и в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” у мышей ICR выявлена анксиолитическая активность. Определены некоторые закономерности по взаимосвязи биологической активности *in vivo* с рядом расчетных показателей: более активными были соединения, обладающие большими значениями Docking score, LogP и LogBB, что хорошо согласуется с базовыми принципами медицинской химии в отношении нейропсихотропных средств.

Для дальнейшей разработки в качестве потенциального анксиолитического средства было отобрано соединение-лидер *N*-бензгидрил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиразин-3-карбоксамид (ГМЛ-102), показавший наличие противотревожной активности у мышей в широком интервале доз в обоих используемых поведенческих тестах.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках Государственного задания ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова” на 2022–2024 годы № FGFG-2022-0005 “Создание новых химических структур – потенциальных лиган-

дов фармакологических мишеней для лечения нервно-психических и сердечно-сосудистых заболеваний”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Организацию и проведение работ с животными осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216-2014 “Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами”, ГОСТ 33215-2014 “Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур”, Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, и правилами, утвержденными комиссией по биоэтике ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mokrov G.V., Deeva O.A., Gudasheva T.A. // *Curr. Pharm. Des.* 2020. V. 27. P. 217–237. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200903122025>
2. Sanabria E., Cuenca R.E., Estes M.Á., Maldonado M. // *Toxics.* 2021. V. 9. P. 25. <https://doi.org/10.3390/toxics9020025>
3. Rupperecht R., Papadopoulou V., Rammes G., Baghai T.C., Fan J., Akula N., Groyer G., Adams D., Schumacher M. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2010. V. 9. P. 971–988. <https://doi.org/10.1038/nrd3295>
4. Sugawara Y., Cheng W.W.L., Bracamontes J.R., Chen Z.W., Wang L., Germann A.L., Pierce S.R., Sennett T.C., Krishnan K., Reichert D.E., Covey D.F., Akk G., Evers A.S. // *Elife.* 2020. V. 9. P. 1–32. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.55331>
5. Guennoun R., Labombarda F., Gonzalez Deniselle M.C., Liere P., De Nicola A.F., Schumacher M. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2015. V. 146. P. 48–61. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2014.09.001>
6. Rupperecht R., Ranimes G., Eser D., Baghai T.C., Schule C., Nothdurfter C., Troxler T., Gentsch C., Kalkman H.O., Chaperon F., Uzunov V., McAllister K.H., Bertaina-Anglade V., La Rochelle C.D., Tuerck D., Floesser A., Kiese B., Schumacher M., Landgraf R., Holsboer F., Kucher K. // *Science.* 2009. V. 325. P. 490–493. <https://doi.org/10.1126/science.1175055>
7. Da Pozzo E., Costa B., Martini C. // *Curr. Mol. Med.* 2012. V. 12. P. 426–442. <https://doi.org/10.2174/156652412800163451>
8. Barresi E., Robello M., Costa B., Da Pozzo E., Baglini E., Salerno S., Da Settimo F., Martini C., Taliani S. // *Eur. J. Med. Chem.* 2021. V. 209. P. 112924. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112924>

9. Mokrov G.V., Deeva O.A., Gudasheva T.A., Yarkov S.A., Yarkova M.A., Seredenin S.B. // *Bioorg. Med. Chem.* 2015. V. 23. P. 3368–3378. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.049>
10. Mokrov G.V., Pantileev A.S., Yarkova M.A., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. // *Med. Chem.* 2022. V. 18. P. 497–508. <https://doi.org/10.2174/1573406417666210806095051>
11. Gudasheva T.A., Deeva O.A., Mokrov G.V., Dyabina A.S., Yarkova M.A., Seredenin S.B. // *Med. Chem.* 2018. V. 15. P. 383–399. <https://doi.org/10.2174/1573406415666181119164846>
12. Gudasheva T.A., Deeva O.A., Pantileev A.S., Mokrov G.V., Rybina I.V., Yarkova M.A., Seredenin S.B. // *Molecules.* 2020. V. 25. P. 5132. <https://doi.org/10.3390/molecules25215132>
13. Середенин С.Б., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Деева О.А., Ярково С.А., Ярково М.А., Жердев В.П., Алексеев К.В., Дурнев А.Д., Незнамов Г.Г. // Патент RU 2572076 C2, 2015.
14. Середенин С.Б., Ярково М.А., Поварнина П.Ю., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. // Патент RU 2699568 C2, 2019.
15. Середенин С.Б., Мокров Г.В., Ярково М.А., Пантале-ев А.С., Гудашева Т.А., Дурнев А.Д. // Патент RU 2734240 C2, 2020.
16. Schrödinger Release 2015-4: Maestro, Version 10.4, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2015. <https://www.schrodinger.com/products/maestro>
17. Schrödinger Release 2015-2: LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2015. <https://www.schrodinger.com/products/ligprep>
18. ADMETlab 2.0: an Integrated Online Platform for Accurate and Comprehensive Predictions of ADMET Properties, 2021. <https://admetmesh.scbdd.com/>
19. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. Миронова А.Н. Москва: Гриф и К, 2012. 944 с.
20. Середенин С.Б., Ведерников А.А. // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 1979. Т. 88. № 7. С. 38–40.
21. Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. // *Neurosci. Meth. J.* 1985. V. 14. P. 149–167.

Design, Synthesis, and Study of the Anxiolytic Activity of New Pyrrolo[1,2-*a*]pyrazine-Containing TSPO Ligands

G. V. Mokrov^{*, #}, A. S. Pantileev^{*}, M. A. Yarkova^{*}, I. V. Rybina^{*}, T. A. Gudasheva^{*}, Yu. V. Vakhitova^{*}, and S. B. Seredenin^{*}

[#]Phone: +7-926-185-68-46; e-mail: g.mokrov@gmail.com

^{*}Research Zakusov Institute of Pharmacology, ul. Baltiyskaya 8, Moscow, 125315 Russia

A new group of 1-phenylpyrrolo[1,2-*a*]pyrazine-3-carboxamides, in which substituents at the amide nitrogen atom are alkyl, benzyl or alkoxyphenylalkyl groups, amino acid residues or their derivatives, has been obtained in this work. The synthesized compounds have high theoretical affinities for the 18 kDa translocator protein (TSPO) and a favorable profile of ADMET characteristics, which makes them promising for drug development. Anxiolytic activity was detected for eight compounds at doses of 0.1–5.0 mg/kg when administered intraperitoneally under conditions of emotional stress in the open field test in Balb/c mice and in the elevated plus maze test in ICR mice. *N*-Benzhydryl-1-phenylpyrrolo[1,2-*a*]pyrazine-3-carboxamide was selected as a lead compound for further development as a potential anxiolytic agent, which showed the presence of anti-anxiety activity in a wide range of doses in both tests used.

Keywords: TSPO ligands, pyrrolo[1,2-*a*]pyrazines, molecular modeling, anxiolytic activity, animal models