

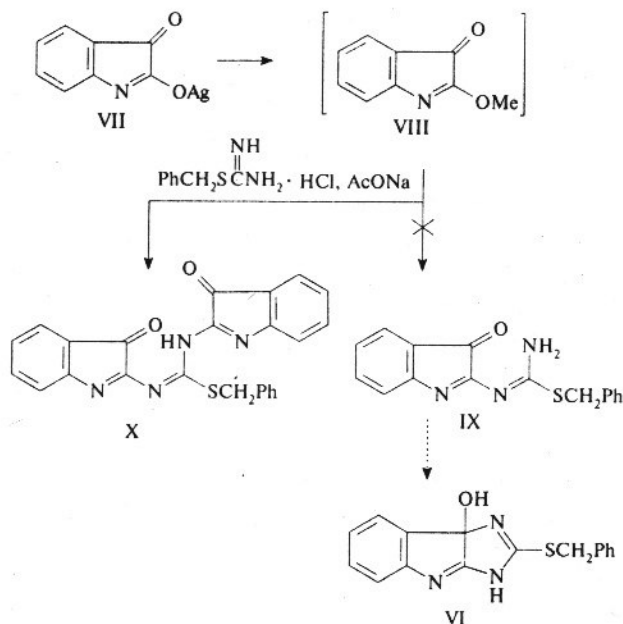
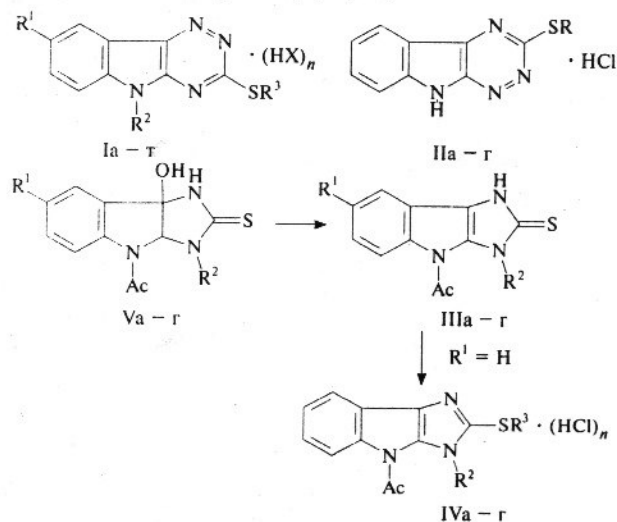
А. Б. Томчин, С. В. Оковитый, В. С. Вележева, А. В. Смирнов

ПРОИЗВОДНЫЕ ТИОМОЧЕВИНЫ И ТИОСЕМИКАРБАЗИДА. СТРОЕНИЕ, ПРЕВРАЩЕНИЯ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ. ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ТРИАЗИНО- И ИМИДАЗОИНДОЛОВ

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург

Эффективность известных гепатопротекторных лекарственных средств при заболеваниях печени недостаточна [1]. В связи с постоянным ростом травматических, токсических и инфекционных поражений этого органа [2] представлял интерес поиск новых лекарственных веществ, обладающих гепатопротекторной активностью. Мы решили провести поиск в ряду производных 1,2,4-триазиноиндола, содержащих в молекуле фрагмент тиомочевины [3–5]. Поскольку гепатопротекторную активность проявляют антиоксиданты [6], указанные соединения заслуживают внимания в связи с их способностью ингибировать перекисное окисление липидов и наличием у них мембраностабилизирующего действия [5]. Кроме того, для некоторых соединений этого ряда обнаружена способность угнетать систему микросомального окисления печени [7]. В связи с этим можно было предположить наличие у них гепатопротекторного действия, характерного для ингибитора микросомального окисления дитиокарба и сходных с ним препаратов и обусловленного уменьшением образования токсичных метаболитов гепатотропных ядов [8]. Наряду с этим мы учитывали, что одним из путей ускорения регенерации печени может стать воздействие производных триазиноиндола на иммунные механизмы [9].

Для испытаний получены производные 1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола (Ia–т) и изомерного ему 1,2,4-триазино[6,5-*b*]индола (IIa–г). Кроме того, для сопоставления с ними синтезированы некоторые другие конденсированные производные индола, также содержащие тиокарбамидный фрагмент: имидазо[4,5-*b*]индол-2-тионы (IIIa–г) и их *S*-алкильные производные (IVa–г). Синтез этих соединений, за исключением Iл, о, описан нами ранее [3, 4, 10].



- Ia: $R^1 = R^2 = H, R^3 = (CH_2)_2NMe_2, X = Cl, n = 1$;
 б: $R^1 = R^2 = H, R^3 = (CH_2)_2NEt_2, X = Cl, n = 1$;
 в: $R^1 = R^2 = H, R^3 = (CH_2)_2NPr_2, X = Cl, n = 1$;
 г: $R^1 = R^2 = H, R^3 = 2-(2-оксо-1-пирролидинил)этил, n = 0$;
 д: $R^1 = Br, R^2 = H, R^3 = 2-морфолиноэтил, X = Cl, n = 2$, моногидрат;
 е: $R^1 = OMe, R^2 = H, R^3 = 2-морфолиноэтил, X = Cl, n = 2$, моногидрат;
 ж: $R^1 = NH_2, R^2 = H, R^3 = (CH_2)_2NMe_2, X = Cl, n = 1$;
 з: $R^1 = NH_2, R^2 = H, R^3 = (CH_2)_2NEt_2, X = Cl, n = 1$;
 и: $R^1 = NH_2, R^2 = H, R^3 = 2-морфолиноэтил, X = Cl, n = 1$;
 к: $R^1 = R^2 = H, R^3 = (CH_2)_3NMe_2, X = Cl, n = 1$;
 л: $R^1 = R^2 = H, R^3 = (CH_2)_3NMe_2, X = OOCCH(OH)CH_2COOH, n = 1$;
 м: $R^1 = R^2 = H, R^3 = 3-пиперидинопропил, X = Cl, n = 1$;
 н: $R^1 = R^2 = H, R^3 = 3-морфолинопропил, X = Cl, n = 1$;
 о: $R^1 = R^2 = H, R^3 = 3-(4-метилпиперазино)пропил, X = Cl, n = 1$;
 п: $R^1 = R^2 = H, R^3 = 3-пиперидинокарбонилметил, n = 0$;
 р: $R^1 = R^2 = H, R^3 = CH_2CON(Bu-i)_2, n = 0$;
 с: $R^1 = H, R^2 = 2-морфолиноэтил, R^3 = SPr, X = Cl, n = 1$;
 т: $R^1 = H, R^2 = CH_2CONH_2, R^3 = 2-морфолиноэтил, X = Cl, n = 2$;
 IIa: $R = (CH_2)_2NMe_2$;
 б: $R = (CH_2)_2NEt_2$;
 в: $R = (CH_2)_2NPr_2$;
 г: $R = 2-морфолиноэтил$;
 IIIa, Va: $R^1 = R^2 = H$;
 б: $R^1 = Br, R^2 = H$;
 в: $R^1 = H, R^2 = Me$;
 г: $R^1 = H, R^2 = CH_2Ph$;
 IVa: $R^2 = H, R^3 = Me, n = 0$;
 б: $R^2 = CH_2Ph, R^3 = Me, n = 0$;
 в: $R^2 = Me, R^3 = (CH_2)_2NEt_2, n = 1$;
 г: $R^2 = CH_2Ph, R^3 = (CH_2)_2NEt_2, n = 1$.

Соединение Io получено конденсацией 1,3-бромхлорпропана с 1-метилпиперазином и последующим взаимодействием образовавшегося 1-(4-метилпиперазино)-3-хлорпропана с 2,3-дигидро-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индол-3-тионом в щелочной среде. Для сравнения влияния различных анионов на свойства солей

3-(3-диметиламинопропилтио)-1,2,4-триазино[5,6-*b*]-индол был выделен в виде гидрохлорида **Ik** и малата **Il**.

2-Алкилтиоимидазо[4,5-*b*]индолы **IVa** – **г** были получены ранее из гидроксипроизводных (**Va** – **г**) [10]. В настоящей работе мы попытались синтезировать соединение близкого строения (**VI**) другим способом, исходя из серебряной соли изатина (**VII**). Превратив ее в *O*-метилвый эфир (**VIII**), мы провели конденсацию последнего с *S*-бензилизотиомочевинной с целью выхода к изотиокарбамиду (**IX**) и последующей циклизации в имидазоиндол (**VI**). Однако вместо соединения **IX** при этом было выделено вещество иного строения (**X**), содержащее в молекуле два индольных фрагмента. Строение соединения **X** подтверждается масс-спектром, в котором содержится пик молекулярного иона, а наиболее интенсивный пик соответствует отщеплению от него бензильного фрагмента. Кроме того, в спектре ПМР синглетам одного протона NH и двух протонов метиленовой группы соответствуют сигналы 13 арильных протонов, что исключает строение **IX**. Для сравнения с конденсированными производными индола **I** – **VI**, содержащими тиокарбамидный фрагмент в соединенном с индольным ядром гетерокольце, в ряд соединений для биологических испытаний было включено производное индола **X**, содержащее указанный фрагмент в связанной с индольным ядром боковой цепи. Выходы и данные электронных спектров поглощения новых синтезированных соединений приведены в табл. 1.

Экспериментальная химическая часть

Однородность всех соединений контролировали наряду с другими методами ТСХ [11]. Методика измерения спектров приведена ранее [11]. Данные элементного анализа соответствуют брутто-формулам.

Малат 3-(3-диметиламинопропилтио)-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола (Il**).** К раствору 10,11 г (50 ммоль) 2,3-дигидро-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индол-3-тиона (**XI**) [12] в 110 мл 1 н. раствора гидроксида натрия прибавляют при перемешивании раствор 8,29 г (52 ммоль) гидрохлорида 3-диметиламинопропилхлорида в 30 мл воды, перемешивают при температуре 50 °С в течение 3 ч и оставляют на ночь. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой (2 × 25 мл), ацетоном (30 мл) и сушат при 80 °С. Получают 12,08 г основания **Il**, после перекристаллизации из изобутилового спирта (37 мл/г) 9,7 г (67,2 %), в виде бледно-желтых кристаллов, т.пл. 210 °С. УФ-спектр в спирте, λ_{max} , нм (lg ϵ): 203 (4,28), 223 (4,22), 265 (4,45), 345 (4,06). Масс-спектр, m/z (*I*, % от максимального пика): [M]⁺ 287 (3), [M–Me₂NH]⁺ 242 (22), [M–Me₂NH–HNCS]⁺ 183 (15), [M–Me₂NH–HNCS–H]⁺ 182 (13), [M–S(CH₂)₃NMe₂]⁺ 169 (16), [M–S(CH₂)₃NMe₂–H]⁺ 168 (38), 85 (85), 84 (99). C₁₄H₁₇N₅S. Смешивают 2,5 г (8,70 ммоль) основания **Il** с 1,29 г (9,62 ммоль) яблочной кислоты и 15 мл абсолютного этанола и нагревают до полного растворения. После охлаждения до 20 °С осадок отфильтровывают, промывают без-

водным эфиром (2 × 30 мл) и сушат при 80 °С. Получают 2,89 г (78,8 %) **Il**, *R*_f 0,63 (элюент этанол – концентрированный водный аммиак, 10 : 1). Строение **Il** подтверждено потенциометрическим титрованием щелочью в 70 % этаноле, а также электронным спектром, в котором положение полос поглощения характерно для 3-алкилтиопроизводных 1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола [3].

Гидрохлорид 3-[3-(4-метилпиперазин-1-ил)пропилтио]-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола (Io**).** К раствору 90 г (0,9 моль) 1-метилпиперазина и 91,08 г (0,9 моль) триэтиламина в 270 мл безводного бензола при перемешивании прибавляют за 3 ч раствор 141,7 г (0,9 моль) 1-бром-3-хлорпропана в 180 мл безводного бензола и оставляют на ночь. Осадок гидрохлорида триэтиламина отфильтровывают, промывают безводным бензолом, фильтрат и промывную жидкость объединяют. Бензол отгоняют, остаток перегоняют в вакууме. Получают 52,8 г (33 %) 1-(4-метилпиперазино)-3-хлорпропана (**XII**) в виде бесцветной прозрачной жидкости (т. кип. 85 – 86 °С / 7 мм рт.ст.), быстро мутнеющей при хранении. Выделенное основание тотчас используют в синтезе или переводят в более устойчивый гидрохлорид. Последний образуется с почти количественным выходом в виде бесцветных гигроскопичных кристаллов при взаимодействии основания с раствором безводного хлористого водорода в эфире.

К раствору 19,42 г (95,6 ммоль) **XI** в 102 мл 1 н. раствора гидроксида натрия прибавляют раствор 17,76 г (100,6 ммоль) основания **XII** в 100 мл этанола, перемешивают в течение 8,5 ч и оставляют на ночь. Реакционную массу упаривают в вакууме, остаток сушат в эксикаторе над хлористым кальцием, растворяют в 400 мл кипящего этанола и охлаждают. Через 2 сут выпавший осадок отфильтровывают, суспенди-

Таблица 1
Характеристика синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	Т.пл., °С (растворитель для кристаллизации; количество, мл/г)	Брутто-формула	$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$, нм (lg ϵ)
Il	53 ^a	163	C ₁₄ H ₁₇ N ₅ S · C ₄ H ₆ O ₅	203 (4,23), 223 (4,18), 265 (4,31), 345 (3,99)
Io	50,7 ^a	228 – 230 (этанол – вода, 2 : 1; 16,4)	C ₁₇ H ₂₂ N ₆ S · HCl	224 (4,28), 266 (4,55), 348 (4,04)
IIb	57,1 ^a	240 ^b (бензол – гексан, 1 : 1; 7,74) ^a	C ₁₇ H ₃₃ N ₅ S · HCl	268 (4,51), 297 пл (3,85), 337 (3,91), 409,5 (3,21)
X	40,9 ^г	222 (бутанол; 40)	C ₂₄ H ₁₆ N ₄ O ₂ S	258 (4,22), 285 пл (3,93), 3,99 (3,10)

Примечания. ^a Приведен выход по отношению к соответствующему 1,2,4-триазиноиндол-3-тиону. ^b Т. пл. заметно зависит от скорости нагревания. Вносят в прибор при 230 °С и нагревают со скоростью 3 °С/мин. ^г Указан растворитель для перекристаллизации соответствующего основания. ^д По отношению к соединению **VII**.

уюют в кипящей смеси 200 мл этанола и 8 мл конц. HCl и отфильтровывают, не охлаждая. Продукт перемешивают с 30 мл эфира, отфильтровывают и сушат в вакууме. Получают 15,73 г (43,5 %) сырого продукта. Из спиртовых маточных растворов спустя несколько суток выпадает дополнительно 3,35 и 5,65 г основания Io, т.пл. 206 °C (из этанола). Общий выход Io после перекристаллизации составляет 50,7 %, R_f 1,80 (элюент этанол — 3 % водный аммиак, 1: 5). Вещество трудно фильтруется, так как образует с растворителями студнеобразные структуры, легко растворяется на холоду в воде, с трудом растворяется даже при температуре кипения в этаноле, пропаноле и яблочной уксусной кислоте. Строение Io подтверждено так же, как для Il. Спектры ПМР — в DMSO- d_6 , δ , м.д.: 2,20 м (2H, CH₂), 2,80 с (3H, CH₃), 3,30–3,60 м (12H, шесть CH₂), 7,40 т (1H, Ar), 7,60–7,80 м (2H, Ar), 8,30 д (1H, Ar), 11,80 с (1H, NH), 12,75 с (1H, NH⁺); в D₂O, δ , м.д.: 2,22 м (2H, CH₂), 3,00 с (3H, CH₃), 3,14 м (2H, CH₂), 3,42 м (4H, две CH₂), 3,70 м (5H, три CH₂), 6,85–6,97 м (2H, Ar), 7,22–7,42 м (2H, Ar).

Гидрохлорид 3-(2-дипропиламиноэтилтио)-2,4-триазино[6,5-b]индола (IIв). К раствору 5 г (24,75 ммоль) 2,3-дигидро-1,2,4-триазино[6,5-b]индол-3-тиона [13] в течение 30 мин прибавляют при интенсивном перемешивании раствор 5,83 г (32,14 ммоль) гидрохлорида 2-дипропиламиноэтиллорид в 15 мл воды и оставляют на ночь. Осадок отфильтровывают, промывают водой (5 × 10 мл) и сушат в вакууме. Получают основание IIв, выход 6,65 г, после перекристаллизации 5,42 г (66,5 %). Его смешивают с 30 мл этанола, прибавляют 1,57 мл конц. HCl и кипятят 2 мин. После охлаждения до 20 °C прибавляют 80 мл эфира, выдерживают 2 ч при –10 °C, осадок отфильтровывают, промывают эфиром (6 × мл) и сушат. Получают 4,2 г соединения IIв в виде лимонно-желтых кристаллов, растворимых в воде.

N,N'-Ди(3-оксо-2-индолинил)-S-бензилизотиомочевина (X). Смешивают 32 г (126 ммоль) тщательно просушенного и тонкоизмельченного соединения VII с 30 мл безводного эфира и 12,2 мл (101,2 ммоль) йодистого метила и выдерживают без доступа света и влаги при эпизодическом встряхивании в течение 9 сут. прибавляют 85 мл безводного бензола, энергично встряхивают 3 мин и оставляют на 1 ч без доступа света. Осадок отфильтровывают, промывают безводным бензолом (3 × 30 мл), промывную жидкость приливают к фильтрату. Быстро растворяют при нагревании до 50 °C 23 г (113 ммоль) гидрохлорида бензилизотиомочевина и 15,4 г (113 ммоль) тригидрата ацетата натрия в 740 мл воды, полученный раствор смешивают с эфирно-бензольным раствором, энергично встряхивают 3 ч и оставляют на ночь. Фильтруют, осадок промывают бензолом (2 × 8 мл), водой (4 × 20 мл), пентаном (5 × 20 мл) и сушат в вакууме над фосфорным ангидридом и парафином. Получают блестящие алые кристаллы соединения X, R_f

0,44 (элюент этилацетат — гексан, 1: 2). Спектр ПМР (DMSO- d_6), δ , м.д.: 4,11 с (2H, CH₂), 6,41 д (1H, J 9 Гц, Ar), 6,98–7,81 м (12H, Ar), 8,27 с (1H, NH). Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$, %) $[M]^+$ 424 (16,4), $[M-CH_2C_6H_5]^+$ 333 (100), $[M-CH_2C_6H_5-CO]^+$ 305 (12,7), $[M-CH_2C_6H_5-S]^+$ 301 (7,5), 278 (10), 277 (7,8), 248 (10,7), 220 (5,8), 189 (8,4), 147 (9,1), 146 (9,1), 145 (52,7).

В синтезе соединений Il, о принимали участие Т. И. Жукова и Т. А. Кузнецова.

Экспериментальная биологическая часть

Испытания проводили на беспородных белых крысах-самцах массой 130–200 г. Токсическое поражение печени вызывали подкожным введением 50 % раствора тетрахлорметана в вазелиновом масле в дозе 0,4 мл/100 г массы в течение 4 сут ежедневно [14]. Параллельно с этим опытным группам животных ежедневно в течение 4 сут внутрибрюшинно вводили исследуемые соединения в физиологическом растворе или в виде тонкой суспензии с добавлением твина-80 в объеме 1 мл на животное, а контрольным — физиологический раствор. В каждую группу животных включали по 6–10 крыс. Дозы веществ, дающие максимальный гепатопротекторный эффект, определяли в серии предварительных экспериментов. В качестве препаратов сравнения использовали комбинацию рибоксина и оротата калия в дозах по 50 мг/кг [15] и эссенциале в дозе 80 мг/кг [16]. Поскольку наибольшие морфологические и функциональные изменения наблюдаются на седьмой день от начала введения тетрахлорметана [17], материал для проведения биохимических исследований забирали именно в этот день.

Изучали также влияние некоторых из синтезированных соединений на процессы регенерации печени на модели частичной гепатэктомии, обеспечивающей максимальную стимуляцию пролиферации гепатоцитов [18]. Животным под эфирным наркозом удаляли левую боковую и центральную доли печени, что составляло 2/3 органа. После операции животных делили на равные опытные и контрольные группы по 6–10 крыс в каждой. Исследуемые соединения и препараты сравнения вводили внутрибрюшинно в день операции и в последующем в течение 4 дней (контрольной группе вводили физиологический раствор), так как наибольшая активность процессов синтеза белка и нуклеиновых кислот наблюдается до четвертого дня после операции [19]. Крыс забивали на 7-й день, так как к этому времени регенерация печени практически завершается [20].

Соединение Io изучалось также на модели экспериментального хронического гепатита [21] у крыс-самцов массой 180–200 г, которым вводили тетрахлорметан (0,2 мл/кг) в 50 % масляном растворе внутрь 3 раза в неделю в течение 30 дней. Опытным животным вводили также ежедневно внутрибрюшинно соединение Io в дозе 50 мг/кг. Исходный раствор Io (10 мг/мл) предварительно доводили до pH 3,5 до-

бавлением 0,1 н. раствора гидроксида натрия в присутствии твина-80. В опытной и контрольной группах использовали по 6 животных.

Наиболее широко при диагностике заболеваний печени применяется определение активности аланин-аминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), поскольку при таких заболеваниях в результате некроза гепатоцитов эти ферменты освобождаются в кровеносное русло и их концентрация в сыворотке крови увеличивается [17]. Содержание в сыворотке крови АлАТ, АсАТ, общего билирубина, общего белка, азота мочевины, креатинина, глюкозы и калия определяли на автоматических биохимических анализаторах SMA-12/16 фирмы Technicon instruments corporation (США) и Abbot-spectrum фирмы Abbot laboratories s.a. (Швейцария).

На седьмой день после отравления тетрахлорметаном или частичной гепатэктомии и на тридцать первый день при хроническом введении тетрахлорметана для оценки степени восстановления функциональной активности печени определяли продолжительность гексеналового сна. Гексенал вводили внутривентрально в дозе 80 мг/кг [22]. После пробуждения животных забивали декапитацией, печень и кровь забирали для проведения биохимических исследований.

Результаты опытов статистически обрабатывали методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Statgraphics на персональном компьютере IBM PS/AT, а также с помощью непараметрических методов с использованием критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Для оценки гепатопротекторной активности вычисляли отношение соответствующего показателя контрольной группы животных к показателю опытной группы. Таким образом, влияние соединений на концентрацию АлАТ, АсАТ и билирубина, а также на продолжительность гексеналового сна характеризовали коэффициентами $K_{\text{АлАТ}}$, $K_{\text{АсАТ}}$, $K_{\text{бил}}$ и $K_{\text{гекс}}$. Для выяснения, в какой мере эти показатели являются взаимозависимыми, на модели тетрахлорметанового гепатита, где был испытан более широкий ряд соединений, для всех веществ, за исключением Ie, с и IIb, вычислена аппроксимационная модель: $K_{\text{АлАТ}} = 2,03 K_{\text{АсАТ}} - 1,36 K_{\text{АсАТ}}^2 + 0,322 K_{\text{АсАТ}}^3$ (1); $F = 454,2$; $p \leq 0,0001$; $r = 0,98$. Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0001$. Таким образом, величины $K_{\text{АлАТ}}$ и $K_{\text{АсАТ}}$ достоверно связаны между собой. При этом, как видно из табл. 2 и 3, величины $K_{\text{АлАТ}}$ более чувствительны к изменению химического строения, чем величины $K_{\text{АсАТ}}$. Поэтому при интегральной оценке гепатопротекторного действия в качестве показателя влияния на уровень трансаминаз выбрана величина $K_{\text{АлАТ}}$. Для такой оценки мы характеризовали соединения величиной, названной нами коэффициентом защиты (КЗ), который вычисляли как среднеарифметическую величину трех показателей: $KЗ = (K_{\text{АлАТ}} + K_{\text{АсАТ}} + K_{\text{гекс}})/3$.

Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 2, при действии тетрахлорметана возникают как цитопатологические, так и общие функциональные сдвиги со стороны печени. Концентрация АлАТ в контрольной группе животных, по сравнению с интактной группой, увеличивается в 2,3 раза, уровень общего билирубина в плазме — в 2 раза. Существенно страдает и функция системы микросомального окисления: продолжительность гексеналового сна вследствие снижения детоксикационной функции печени увеличивается в 2,9 раза.

Во всех исследованных рядах соединений — индола, 1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола, 1,2,4-триазино[6,5-*b*]индола и имидазо[4,5-*b*]индола — найдены соединения, обладающие высокой гепатопротекторной активностью.

Так, на модели острого тетрахлорметанового гепатита уровень АлАТ в плазме крови (по сравнению с контролем) снижают соединения Ig (в 1,3 раза), Iж (в 2,03 раза), Iz (в 1,66 раза), Iи (в 1,46 раза), In (в 1,32 раза), Io (в 2,0 раза), Ic (в 2,89 раза), IIb (в 2,02 раза), IIIa (в 2,16 раза), Va (в 1,18 раза) и X (в 2,3 раза).

Концентрация АсАТ снижается под влиянием соединений Ig (в 1,26 раза), Iж (в 1,28 раза), In (в 1,70 раза), Io (в 1,29 раза), IIIa (в 1,38 раза) и X (в 1,27 раза). Соединения Iz, и, IIb и Va практически не влияют на этот показатель, а соединение Ic увеличивает его в 1,28 раза по сравнению с контролем.

Уровень общего билирубина плазмы уменьшают соединения In (в 1,86 раза), IIb (в 1,53 раза), Va (в 2 раза), в то время как соединения Ig, ж, з, и, о, X не оказывают заметного влияния на этот показатель. Соединения Ic и IIIa повышают уровень билирубина в 2,5 и 2 раза соответственно.

Продолжительность гексеналового сна сокращают соединения Ig (в 1,9 раза), Iж (в 1,64 раза), Iz (в 1,28 раза), Iи (в 1,7 раза), In (в 1,98 раза), Io (в 1,52 раза), IIIa (в 1,61 раза) и X (в 1,82 раза). Соединения Ic и IIb не изменяют этот параметр, а соединение IVa даже увеличивает продолжительность гексеналового сна в 1,23 раза.

На модели частичной гепатэктомии из 9 исследованных производных индола выявлены 2 соединения Io и It, обладающие достаточно выраженной гепатопротекторной активностью (табл. 3): снижают концентрацию в плазме крови АлАТ в 1,23 и 1,7 раза, общего билирубина в 1,66 и 1,2 раза соответственно. На уровень АсАТ и длительность гексеналового сна они заметного влияния не оказывают.

На модели экспериментального хронического гепатита у крыс одно из наиболее активных соединений — Io достоверно снижает уровень АлАТ ($с\ 286,3 \pm 6,8$ до $195,0 \pm 9,9$ ммоль/с·л), билирубина ($с\ 5,13 \pm 0,2$ до $3,42 \pm 0,11$ мкмоль/л) и щелочной фосфатазы ($с\ 444,4 \pm 20,6$ до $183,7 \pm 14,3$ мкмоль/мл), а также увеличивает выживаемость животных на 20 %. Величина КЗ на этой модели составляет 1,3. Таким образом, гепатопротекторная активность соединения Io

подтверждена и на модели экспериментального хронического гепатита.

На модели тетрахлорметанового поражения печени для производных триазиноиндола (за исключением соединений Ig, и, н, с) обнаруживается зависимость между их влиянием на активность АлАТ и продолжительностью гексеналового сна: $K_{\text{гекс.}} = 3,33K_{\text{АлАТ}} - 2,99K_{\text{АлАТ}}^2 + 0,84K_{\text{АлАТ}}^3$ (2), $F = 247,5$; $p \leq 0,0001$, $r = 0,978$. Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0001$. Однако зависимость соблюдается для меньшего числа соединений и является менее точной, чем зависимость между величинами $K_{\text{АлАТ}}$ и $K_{\text{АсАТ}}$. Согласно этому уравнению, в исследуемом интервале значений $K_{\text{АлАТ}}$ их увеличение может приводить не только к увеличению, но и уменьшению величин $K_{\text{гекс.}}$.

Следовательно, эти величины целесообразно рассматривать в качестве независимых.

Между коэффициентами защиты на обеих моделях для производных 1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола существует линейная зависимость (для моделей в порядке их упоминания приняты индексы 1 и 2): $KZ_2 = 1,807KZ_1^2 - 0,811KZ_1^3$ ($F = 4625$). Соответствующие корреляции найдены и для влияния указанных соединений на отдельные функционально-метаболические показатели состояния печени, причем две последние зависимости являются линейными: $K_{\text{АлАТ}}(2) = 1,695K_{\text{АлАТ}}(1)^2 - 0,706K_{\text{АлАТ}}(1)^3$ (за исключением V, $F = 9545$); $K_{\text{бил.}}(2) = 1,003K_{\text{бил.}}(1)$ (за исключением In, $F = 192183$); $K_{\text{гекс.}}(2) = 0,986K_{\text{гекс.}}(1)$ (за исключением Id, $F = 5565$). Для всех 4 приведенных выше корреляций $p \leq 0,00001$, $r \geq 0,999$, все коэффициенты для зависи-

Таблица 2

Влияние производных индола на функционально-метаболические показатели состояния печени в условиях ее поражения тетрахлорметаном

Соединение	Доза, мг/кг, внутрибрюшинно	Аланинаминотрансфераза плазмы, ммоль/с · л	Аспаратаминотрансфераза плазмы, ммоль/с · л	Общий билирубин, мкмоль/л	Продолжительность гексеналового сна, мин	KZ ₁
Интактные животные	—	59,7 ± 3,35	30,2 ± 5,20	3,40 ± 0,27	17,5 ± 1,9	—
Контроль	—	137,8 ± 8,76**	83,2 ± 6,25**	6,84 ± 0,13**	50,0 ± 5,2**	—
Рибоксин + уротат калия	100	99,2 ± 6,30*	60,1 ± 7,15*	6,32 ± 0,31	38,5 ± 3,7*	1,28
Эссенциале	80	92,5 ± 10,2	75,0 ± 6,30	5,16 ± 0,20	33,6 ± 2,67	1,43
а	42	263,3 ± 18,92*	108,1 ± 11,01	4,52 ± 0,26*	46,3 ± 4,1	1,04
б	46	286,8 ± 17,08*	105,6 ± 11,23	4,56 ± 0,18*	53,5 ± 4,7	0,98
в	50	95,7 ± 9,93	96,7 ± 13,15	12,91 ± 2,7	43,9 ± 1,3	1,05
г	50	106,0 ± 6,74*	66,0 ± 6,16	6,80 ± 0,40	26,3 ± 2,8*	1,40
д	20	82,5 ± 10,2	79,2 ± 7,41	6,84 ± 0,37	55,0 ± 5,0	1,19
е	59	104,4 ± 6,64*	57,8 ± 3,69*	6,88 ± 0,42	42,7 ± 5,5	1,16
ж	50	67,9 ± 4,30*	65,0 ± 6,05	6,64 ± 0,29	30,5 ± 2,6*	1,57
з	50	83,0 ± 5,28*	88,2 ± 4,91	6,84 ± 0,38	39,0 ± 3,4*	1,31
и	50	94,4 ± 6,00*	85,7 ± 8,54	6,82 ± 0,38	29,4 ± 3,2*	1,39
к	50	101,3 ± 16,7	108,0 ± 14,1	10,70 ± 0,98	37,6 ± 4,1	1,11
л	50	128,8 ± 12,1	99,8 ± 7,64	4,52 ± 0,18*	52,5 ± 3,8	1,18
м	6	398,3 ± 26,1*	158,0 ± 7,51*	6,80 ± 0,36	64,0 ± 5,8	0,77
н	40	104,4 ± 4,02	48,9 ± 4,5	3,66 ± 0,15	26,6 ± 2,4	1,69
о	50	68,9 ± 4,63	64,5 ± 3,21	6,85 ± 0,34	32,9 ± 2,8*	1,51
п	50	125,3 ± 8,62	81,6 ± 6,99	8,55 ± 1,75	36,8 ± 6,8	1,09
р	50	139,2 ± 8,94	84,8 ± 3,07	6,79 ± 0,27	53,0 ± 5,4	0,98
с	50	47,69 ± 6,03*	106,1 ± 9,2	17,1 ± 2,12*	50,0 ± 3,6	1,43
Ia	42	269,1 ± 17,5*	121,8 ± 10,15	4,56 ± 0,22*	51,5 ± 3,3	0,99
IIb	46	271,5 ± 14,4*	120,6 ± 10,16*	4,58 ± 0,22*	51,0 ± 4,9	0,99
Iv	50	68,2 ± 4,35	84,0 ± 5,45	4,48 ± 0,16*	42,4 ± 5,4	1,58
Ig	48	264,6 ± 16,81*	122,3 ± 17,36*	4,60 ± 0,17*	41,6 ± 3,6	1,07
IIa	50	63,8 ± 6,06	60,3 ± 8,16*	13,7 ± 0,98*	31,0 ± 3,0*	1,42
IIb	20	123,1 ± 7,79	78,5 ± 8,11	4,66 ± 0,18*	70,0 ± 7,2	1,10
Vb	25	165,4 ± 10,51*	67,6 ± 9,21	3,24 ± 0,07*	39,8 ± 4,1	1,40
Vv	25	140,6 ± 8,93	76,3 ± 5,23	6,80 ± 0,27	42,4 ± 4,4	1,05
Vr	25	147,5 ± 12,22	77,7 ± 8,04	4,36 ± 0,11*	71,4 ± 6,8*	1,07
Ya	50	115,8 ± 10,36	94,0 ± 4,63	3,42 ± 0,16*	61,5 ± 5,2	1,33
Yb	50	59,9 ± 3,35	65,5 ± 9,36	6,78 ± 0,34	27,5 ± 4,3*	1,37

Примечание. Здесь и в табл. 3: * — отличие статистически достоверно по сравнению с показателем контрольной группы животных ($p \leq 0,05$); ** — отличие статистически достоверно по сравнению с показателем интактной группы животных ($p \leq 0,05$).

мости с величинами $K_{\text{АЛАТ}}$ статистически значимы при $p \leq 0,0001$, для остальных корреляций — при $p \leq 0,00001$.

Анализ связи между строением и гепатопротекторной активностью изученных соединений позволил выявить ряд закономерностей. Из диалкиламиноэтилтиопроизводных 1,2,4-триазино[5,6-b]- и [6,5-b]индола соединения с терминальными диметиламино- и диэтиламиногруппами не активны, тогда как при переходе к дипропиламиногруппе активность обнаруживается. Высокой активностью обладают соединения, содержащие в боковой цепи остаток некоторых циклических аминов — производные 2-пирролидона, 1-метилпиперазина и морфолина. Напротив, наличие в боковой цепи остатка пиперидина, равно как и замена в боковой цепи одного из двух метиленовых звеньев, связанного с аминогруппой, карбонильной группой, вызывает снижение активности. Введение третьего метиленового звена приводит к получению более активных соединений.

Замещение в положении 8 производных триазиноиндола атома водорода бромом или метоксигруппой не оказывает значительного влияния на активность, тогда как введение аминогруппы приводит к получению соединений Ie – z, обладающих высокой активностью. Эти соединения, как правило, не подчиняются обсуждаемым ниже корреляциям структура – активность, справедливым для других соединений. Поэтому можно предположить, что аминогруппа в положении 8 непосредственно взаимодействует с рецептором.

При замещении атома водорода при индольном азоте аминокарбонилметильной или морфолиноэтильной группой гепатопротекторная активность сохраняется или увеличивается. Сопоставление производных 1,2,4-триазино[5,6-b]индола и 1,2,4-триазино[6,5-b]индола показывает, что активность мало зависит от места конденсации индольного и триазинового ядер, за исключением дипропиламиноэтилтиопроизводных (в этом случае соединения второго ряда более активны).

Как видно на примере соединений Iк и Iл, активность солей зависит от строения не только катиона, но и аниона. Малат Iл несколько превосходит в этом отношении гидрохлорид Iк, однако увеличивает уровень креатинина в плазме в 1,5 раза по сравнению с контролем, что свидетельствует о нарушении выделительной функции почек.

В ряду имидазо[4,5-b]индола защитное действие про-

являют как незамещенные 2-тионы, так и их S-метильные производные, причем последние превосходят по активности S-диэтиламиноэтильные аналоги. При замещении атома водорода в положении 7 бромом активность уменьшается, а при замещении атома водорода в имидазольном кольце бензильным радикалом сохраняется. Дегидратация гидроксипроизводных имидазоиндола Va – г сопряжена с увеличением активности. Изотиоурейное производное индола X, не содержащее дополнительного конденсированного гетерокольца, тоже проявляет активность.

Нами исследована взаимосвязь между гепатопротекторной активностью и важнейшими физико-химическими свойствами — константами ионизации и коэффициентами распределения в системе октанол – вода [3, 4].

Для растворимых в воде 1,2,4-триазино[5,6-b]индолов, за исключением 8-аминопроизводных, обнаружена колоколообразная зависимость между основностью и активностью, которая хорошо описывается уравнением параболы третьего порядка: $KЗ_1 = 0,0853 pK_a^2 - 0,00833 pK_a^3$ ($F = 193,8$; $p \leq 0,0001$, $r = 0,98$). Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0001$. Таким образом, для упомянутых соединений выявлена область оптимальной основности, соответствующая интервалу величин pK_a $6,85 \pm 1$. Если же рассматривать все соединения без исключения, то наиболее активные обнаруживаются, как правило, в области низкой основности, при $pK_a < 7$. Это затрудняет выбор веществ, пригодных по растворимости для создания инъекционных лекарственных форм. В этой связи заслуживают внимания 8-аминопроизводные, для которых область оптимальной основности сдвинута в сторону более высоких значений pK_a , а также соединения Iп, о и IIв.

Корреляция между интегральной гепатопротекторной активностью и липофильностью отсутствует. Об-

Таблица 3
Влияние производных индола на функционально-метаболические показатели состояния печени после частичной гепатэктомии

Соединение	Доза, мг/кг, внутрибрюшинно	Аланинами-нотрансфераза плазмы, ммоль/с · л	Аспартатами-нотрансфераза плазмы, ммоль/с · л	Общий билирубин, мкмоль/л	Продолжительность гексеналового сна, мин	KЗ ₁
Интактные животные	—	45,3 ± 1,70	54,0 ± 3,20	2,05 ± 0,09	22,3 ± 1,0	—
Контроль	—	96,5 ± 28,0**	74,9 ± 12,2**	2,74 ± 0,02**	62,0 ± 8,0**	—
Рибоксин + оротат калия	100	65,0 ± 1,0*	56,0 ± 0,9*	2,58 ± 0,12	50,2 ± 6,5	1,26
Iв	50	66,8 ± 14,52	86,9 ± 1,92	5,13 ± 0,17*	59,0 ± 3,43	1,01
Iд	20	67,5 ± 9,58	79,4 ± 1,22	2,70 ± 0,08	50,4 ± 2,59	1,22
Iк	50	70,7 ± 2,58	97,9 ± 2,53*	4,28 ± 0,85*	46,5 ± 10,5	1,11
Iп	40	73,2 ± 7,67	69,3 ± 1,67	5,13 ± 0,68*	33,0 ± 2,01*	1,24
Io	50	78,4 ± 2,17	64,6 ± 6,5	1,65 ± 0,03*	63,5 ± 1,89*	1,29
Iп	50	87,6 ± 2,90	73,4 ± 2,53	3,42 ± 0,86	45,5 ± 7,49	1,09
Iг	12,5	56,7 ± 6,67*	71,3 ± 6,43	2,28 ± 0,16*	56,4 ± 6,02	1,33
IIIa	50	88,5 ± 4,22	66,9 ± 5,76	3,34 ± 0,04*	75,6 ± 8,36	0,91
IVa	50	70,4 ± 2,44	72,7 ± 11,88	2,70 ± 0,21	44,3 ± 5,56*	1,26

часть липофильности, в которой найдены активные соединения, достаточно широка, т.е. величины $\lg P_{\text{каж}}$ оставляют от 2,1 до 4,3. 8-Аминопроизводные и в том отношении являются исключением, так как для них область оптимальной липофильности сдвинута в сторону меньших значений $\lg P_{\text{каж}}$.

Наряду с совокупностью показателей активности, характеризующейся величиной КЗ, заслуживает внимания обсуждение взаимосвязи между строением и отдельными функционально-метаболическими показателями состояния печени. Показатели цитолитического синдрома на модели отравления тетрахлорметаном больше всего снижают соединения Id, ж, з, о, с, Iv, IIIa и X и на модели гепатэктомии — соединение г (уменьшают концентрацию АЛАТ в 1,6–2,9 раза). Для 1,2,4-триазино[5,6-б]индолов (за исключением соединений Ik, м, с и 8-аминопроизводных) найдена зависимость между липофильностью и влиянием на уровень АЛАТ: $K_{\text{АЛАТ}}(1) = 0,517 \lg P_{\text{каж}}$ ($F = 143,3$; $p \leq 0,0001$, $r = 0,95$). Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,00001$.

Улучшение функции образования билирубина на первой модели в наибольшей степени обеспечивают соединения Ia, б, л, н, IIa – г, IVб, г и Va и на второй модели — соединения Io, снижающие концентрацию билирубина в сыворотке крови в 1,5–2,1 раза. В этом отношении активны 2-диметиламино- и 2-диэтиламино-триазинопроизводные обоих изомерных рядов триазиноиндола. Производные 1,2,4-триазино[6,5-б]индола IIв, г превосходят соединения изомерного ряда. Подобно величинам КЗ, для величин $K_{\text{бил}}$ обоих указанных рядов, за исключением 8-аминопроизводных соединений Ig, м и IIв, установлена колоколообразная зависимость от липофильности: $K_{\text{бил}}(1) = 1,08 P_{\text{каж}} - 0,0919 \lg P_{\text{каж}}^3$ ($F = 101,7$; $p \leq 0,0001$; $r = 0,94$). Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0001$. Область оптимальной липофильности для образования билирубина находится в пределах значений $\lg P_{\text{каж}}$ $1,9 \pm 0,4$.

Характерно, что приведенные корреляции лучше достигаются с кажущимися коэффициентами распределения $\lg P_{\text{каж}}$, чем с величинами $\lg P$ [3]. Это свидетельствует о существенном вкладе ионизации. Действительно, для растворимых соединений ряда 1,2,4-триазино[5,6-б]индола, за исключением 8-аминопроизводных и соединения Iv, влияние на уровень билирубина коррелируется и непосредственно с константами ионизации: $K_{\text{бил}}(1) = 0,0133 pK_a^3 - 0,00132 K_a^4$ ($F = 54,6$; $p \leq 0,0001$, $r = 0,93$). Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0016$. Оптимальная величина pK_a растворимых соединений для образования билирубина равна $7,5 \pm 0,3$.

Активность системы микросомального окисления печени в наибольшей степени улучшают на модели тетрахлорметанового гепатита соединения Ig, ж, и, н, о, Ia, X и на модели частичной гепатэктомии — соединения In, уменьшающие продолжительность гексеналового сна в 1,5–1,9 раза. Для растворимых соедине-

ний ряда 1,2,4-триазино[5,6-б]индола (за исключением 8-аминопроизводных) установлена зависимость между этим показателем и основностью: $K_{\text{гекс}}(1) = 0,351 pK_a - 0,0262 pK_a^2$ ($F = 156,9$, $p \leq 0,0001$, $r = 0,96$). Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0035$. Оптимальная величина pK_a по указанному показателю составляет $6,7 \pm 0,3$.

Представляло интерес сопоставить гепатопротекторную активность соединений с другими видами их биологической активности, изученными ранее. Корреляция с антигипоксической активностью, свойственной многим соединениям рассматриваемых рядов [3, 4, 23, 24], отсутствует. Как уже было отмечено выше, для некоторых соединений известна способность ингибировать микросомальное окисление в ранние сроки после введения [7]. Как и следовало ожидать, они проявили высокую гепатопротекторную активность, обусловленную, по-видимому, уменьшением образования токсичных метаболитов тетрахлорметана. В наших опытах на седьмой день после начала введения тетрахлорметана и указанных соединений продолжительность гексеналового сна сокращалась, что свидетельствует о восстановлении способности печени метаболизировать ксенобиотики. Качественно выявляется также связь с актопротекторным действием. Так, высокую защитную активность по отношению к печени проявляют производные триазиноиндола и имидазоиндола Id, н, и, т и IVa, способные повышать и восстанавливать физическую выносливость после истощающих нагрузок или экстремальных воздействий [25]. На модели частичной гепатэктомии наибольшая активность обнаружена, как правило, для актопротекторов.

На основании всех приведенных выше результатов можно сделать вывод о перспективности поиска новых гепатопротекторов в рядах индола, 1,2,4-триазино[5,6-б]индола, 1,2,4-триазино[6,5-б]индола и имидазо[4,5-б]индола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. Н. Чернов, М. В. Васин, в сб.: *Фармакологическая коррекция гипоксических состояний*, Матер. 2-й Всесоюз. конф., Ч. 3, Гродно (1991). с. 495.
2. С. Д. Подымова, *Болезни печени, Руководство для врачей*, Медицина, Москва (1993).
3. А. Б. Томчин, О. Ю. Урюпов, Т. И. Жукова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **31**(3), 19–27 (1997).
4. А. Б. Томчин, О. Ю. Урюпов, А. В. Смирнов, *Хим.-фарм. журн.*, **31**(12), 6–11 (1997).
5. А. Б. Томчин, А. В. Кропотов, *Хим.-фарм. журн.*, **32**(1), 22–26 (1998).
6. Н. П. Скаун, И. Ю. Высоцкий, *Антибиотики*, № 3, 223–227 (1984).
7. Н. Н. Плужников, О. Ю. Урюпов, А. Б. Томчин и др., *Вестн. Ленингр. ун-та*, Сер. 3, **2**(10), 50–55 (1993).
8. А. И. Венгеровский, А. С. Саратиков, *Фармакол. и токсикол.*, № 1, 89–93 (1988).
9. И. Н. Январева, О. Ю. Урюпов, В. Н. Александров, А. Б. Томчин, *Вестник Ленингр. ун-та*, Сер. 3, **2** (10), 59–64 (1990).
10. В. С. Вележева, А. Б. Томчин, А. И. Мельман, и др., *Ж. орган. химии*, **34** (4), 604–617 (1998).

11. А. Б. Томчин, *Ж. орган. химии*, **28**(10), 2207 – 2213 (1992).
12. И. С. Иоффе, А. Б. Томчин, Е. Н. Жукова, *Ж. общ. химии*, **39**(1), 78 – 83 (1969).
13. И. С. Иоффе, А. Б. Томчин, Г. А. Широкий, *Ж. орган. химии*, **7**(1), 179 – 183 (1971).
14. Н. В. Лазарев (ред.), *Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований*, Медгиз, Ленинград (1954).
15. В. Е. Рычнев, В. М. Фролов, *Стимуляторы регенерации в терапии вирусного гепатита и других заболеваний печени*, Изд. Воронеж. гос. унив., Воронеж (1984).
16. А. И. Венгеровский, В. С. Чучалин, О. В. Паульс, *Бюл. экпер. биол. и мед.*, № 8, 192 – 195 (1987).
17. T. F. Slater, *Biochemical Studies of Liver Injury*, Acad. Press, London – New York – San Francisco (1978), pp. 1 – 45.
18. G. M. Higgins and R. M. Anderson, *Arch. Pathol.*, **12**(1), 188 – 202 (1931).
19. Б. П. Солопаев, *Регенерация нормальной и патологически измененной печени*, Волго-Вятское кн. изд., Горький (1980).
20. В. Ф. Сидорова, З. А. Рябинина, Е. М. Лейкина, *Регенерация печени у млекопитающих*, Медицина, Ленинград (1966).
21. А. С. Саратиков, А. И. Венгеровский, Н. О. Батурина и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **59**(1), 24 – 26 (1995).
22. W. C. Verly, *The Control of Liver Growth*, Chalmers, New York (1976).
23. А. Б. Томчин, В. М. Виноградов, Т. И. Жукова и др., А.с. СССР 940476, 978567, 1014249 (1981); 1233460, 1231835, 1235181 (1984); 1487413, 1498021 (1987); 1547281, 1596719 (1988); 1598431, 1665679, 1681504 (1989); 1804067 (1991), *Бюл. изобрет.*, № 25 (1996).
24. А. Б. Томчин, В. М. Виноградов, Т. С. Басиева, А.с. СССР 1014250, 1032758 (1981); 1139143 (1983), *Бюл. изобрет.*, № 26 (1996).
25. А. Б. Томчин, В. М. Виноградов, Р. П. Спивакова и др., А.с. СССР 1220301 (1984); 1498021 (1987); 1584352, 1584382 (1988); 1809608 (1991), *Бюл. изобрет.*, № 25 (1996).
26. А. Б. Томчин, В. С. Вележева, А. И. Мельман, А.с. СССР 1809609, *Бюл. изобрет.*, № 14 (1993).

Поступила 03.03.97