

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ В ГОМОЛОГИЧЕСКОМ РЯДУ 2-АМИНОТИАЗОЛА

В. В. Марышева, П. Д. Шабанов¹

Изучали антигипоксическую активность гомологов 2-аминотиазола и их N-2-сукцинаминовых кислот на четырех моделях гипоксии. Обнаружено, что все 2-аминотиазолы обладают антигипоксической активностью, которая увеличивается с усложнением молекулы. Присоединение к изучаемым соединениям янтарной кислоты по аминогруппе уменьшает их токсичность, параллельно снижая антигипоксическую активность.

Ключевые слова: гипобарическая гипоксия, гиперкапническая гипоксия, гемическая гипоксия, гистотоксическая гипоксия, 2-аминотиазол, 2-аминобензтиазол, 2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индол и их N-2-сукцинаминовые кислоты

ВВЕДЕНИЕ

Недавно выявлена высокая противогипоксическая активность у 2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индола на модели гипобарической гипоксии [5]. Известно, что производные 2-аминотиазола обладают антибактериальной, противовирусной [9] и психотропной активностью [8]. 2-Аминобензтиазолы и продукты их превращений также обладают широким спектром биологической активности. Особое место занимают вещества, замещенные по аминогруппе остатком дикарбоновой кислоты из кислот, входящих в цикл Кребса и являющихся естественными метаболитами [3]. Ранее [7] было показано, что наличие в формуле вещества тио- или изотиомочевинного фрагмента обуславливает антигипоксические свойства. В связи с этим несомненный интерес представлял вопрос, как изменяются антигипоксические свойства в гомологическом ряду: 2-аминотиазол - 2-аминобензтиазол и 2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индол и их сукцинаминовых кислот на различных моделях гипоксии, и оценить влияние строения молекул на биологическую активность.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали 7 соединений сложной гетероциклической структуры, формулы которых представлены на рис. 1. 2-Аминотиазол (соединение 3) и 2-аминобензтиазол (2) — коммерческие продукты, 2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индол (соединение 1) получен по [5], сукцинаминовые кислоты синтезированы в результате их взаимодействия с янтарным ангидридом: соединение 6 в ацетоне на холоду, соединение 5 в ацетоне при кипении, соединение 4 в диметилформамиде (ДМФА) при 130 °С. Препаратом сравнения явился известный антигипоксикант амтизол (7).

N-2-(4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индолил)сукцинаминовая кислота. 1,15 г (5 ммоль) препарата 1 и 1 г (10 ммоль) янтарного ангидрида в 4 мл ДМФА пере-

мешивали при 130 °С в течение 45 мин. После охлаждения до комнатной температуры отфильтровывали выпавший осадок, промывали на фильтре 2 раза ацетоном. Получали 0,6 г сиреневых кристаллов. По данным тонкослойной хроматографии на силуфол (элюент этиацетат-гексан 3:2) индивидуальное вещество с R_f 0,23. Кристаллизовали из смеси ДМФА-бутанол 2:1 с выходом 74 %, сушили при 140 °С 1 ч, получали белые кристаллы с т.пл. 284 – 286 °С (вносили 273 °С). Спектр ПМР (300 МГц): 2,54 – 3,00 м (7H, CH₃, CH₂), 7,03 – 8,50 (4H, Ar), 12,02 (1H, NH), 12,30 (1H, OH).

Все соединения были исследованы в эквимолярных количествах, доза была подобрана ранее при изучении 2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индола.

Гипоксическую гипоксию моделировали в проточной барокамере [6], помещая в нее беспородных крыс-самцов массой 180 – 200 г. Препараты вводили внутрибрюшинно (в/б) за 30 мин до “подъема”. Животных поднимали на “высоту” 11000 м со скоростью 50 м/с, время пребывания на “высоте” 30 мин. Регистрировали время жизни на “высоте”, количество выживших животных.

Гипоксию с гиперкапнией [6] исследовали на беспородных мышках-самцах массой 18 – 20 г. Животных помещали в стеклянные банки объемом 250 мл с герметичными крышками, которые опускали под воду для избежания подсоса воздуха. Препараты вводили в/б в объеме 0,2 мл за 30 мин до гипоксии. Регистрировали время жизни животных.

Гемическую гипоксию [6] изучали на мышках-самцах массой 18 – 20 г. Исследуемые препараты вводили внутрибрюшинно за 30 мин до введения 2 % раствора нитрита натрия в/б в дозе 200 мг/кг. Регистрировали время жизни животных.

Гистотоксическую гипоксию [4] изучали на мышках-самцах массой 18 – 20 г. Исследуемые препараты вводили внутрибрюшинно за 30 мин до введения раствора нитропруссиды натрия в/б в дозе 20 мг/кг. Регистрировали время жизни животных.

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов) Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург, 194044, ул. Академика Лебедева, 6

Контрольным животным вводили 0,9 % раствор хлорида.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента для показателей продолжительности жизни и χ^2 для показателей выживаемости [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование соединений на модели гипобарической гипоксии (табл. 1) выявило увеличение антигипоксической активности по мере усложнения молекул от 2-аминотиазола к 2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]индолу. Так, соединение 3 увеличивает продолжительность жизни подопытных животных на четверть, соединение 2 — в 1,6 раза, а соединение 1 — практически вдвое. Соединения 1 и 2 превосходили эталонный препарат амтизол по увеличению продолжительности жизни, соединение 1 превосходило амтизол и по количеству выживших животных. Сукцинаминовые производные 4 и 5 были менее активны в увеличении продолжительности жизни (16,8 и 1,8 % соответственно), хотя и увеличивали число выживших особей. Соединение 6 уменьшало продолжительность жизни животных на 60 %, однако увеличивало число выживших особей.

Исследование на модели гиперкапнической гипоксии (табл. 2) выявило другие закономерности. Соединения 1 и 2 повышали продолжительность жизни животных в 1,8 и 2,2 раза соответственно, что превышает действие амтизола, который увеличивал время жизни в 1,6 раза. Соединение 3 уменьшало время жизни животных почти на 12 % по сравнению с контролем. Соединения 4 и 6 увеличивали время жизни на треть, а соединение 5 не выявляло антигипоксического эффекта на этой модели гипоксии.

Результаты исследования на модели гемической гипоксии (табл. 3) показали, что соединения 1, 2 и 3 увеличивали продолжительность жизни животных в 2; 1,9 и 1,47 раза соответственно. При этом при воздействии соединения 1 выживало 80 %, а соединений 2 и 3 — 17 % особей. Амтизол увеличивал время жизни в 1,44 раза, однако все животные погибли, как и в контроле. Таким образом, на модели гемической гипоксии соединения 1, 2 и 3 превосходили антигипоксическое действие амтизола. Соединения 4, 5 и 6 по своему действию мало отличались от контроля.

Изучение действия соединений 1 и 2 на модели гипотоксической гипоксии (табл. 4) показало увеличение продолжительности жизни животных в 1,33 и 1,5 раза соответственно. Амтизол достоверно продлевал время

Таблица 1. Влияние соединений 1 – 7 на продолжительность жизни крыс при гипобарической гипоксии

Препарат	Доза, мг/кг	Число животных	Время жизни на "высоте", мин	Продолжительность жизни по отношению к контролю, %	Прирост выживаемости, %	K ₃
Физиологический раствор	—	10	14,04 ± 7,02	—	20	—
Соединение 1	50	6	27,92	196,89	83,33**	1,53
Соединение 2	32,5	6	22,61 ± 4,87	161,04	66,67	1,39
Соединение 3	21,6	6	17,52 ± 6,02	124,77	16,67	—
Соединение 4	64,3	6	16,39 ± 10,56	116,74	50	1,25
Соединение 5	54,1	6	14,29 ± 7,72	101,78	66,67	1,39
Соединение 6	43,3	6	5,44 ± 1,14	38,75	50	1,25
Соединение 7 (амтизол)	25	9	22,21 ± 8,07	158,19	77,78*	1,48

Примечание. Здесь и в табл. 2 – 4 различия достоверны по отношению к контролю при: * — $p \leq 0,05$, ** — $p \leq 0,01$.

Таблица 2. Влияние соединений 1 – 7 на продолжительность жизни мышей при гипоксической гипоксии с гиперкапнией

Препарат	Доза, мг/кг	Число животных	Время жизни, мин	Продолжительность жизни по отношению к контролю, %	Прирост выживаемости, %
Физиологический раствор	—	6	27,97 ± 5,92	—	—
Соединение 1	50	6	50,86 ± 15,22**	181,84	—
Соединение 2	32,5	6	61,63 ± 14,24***	220,34	—
Соединение 3	21,6	6	24,72 ± 2,71	88,38	—
Соединение 4	64,3	7	38,52 ± 7,75*	137,72	—
Соединение 5	54,1	6	27,14 ± 9,78	97,03	—
Соединение 6	43,3	6	37,38 ± 11,73	133,64	—
Соединение 7 (амтизол)	25	7	44,90 ± 8,58**	160,53	—

*** — $p \leq 0,001$

жизни в 1,67 раза по отношению к контролю. Соединения 3 – 6 на этой модели были не эффективны, они уменьшали продолжительность жизни животных практически вдвое в сравнении с контролем.

При анализе структуры исследованных соединений (см. рис. 1) отмечается сходство строения амтизола (соединение 7) и 2-аминотиазола (соединение 3), антигипоксическая активность которого на модели гемической гипоксии сопоставима с активностью амтизола. На других моделях соединение 3 было неактивным. Сочленение 2-аминотиазола с бензольным кольцом (соединение 2) и с индолом (соединение 1) приводило к усилению биологических свойств и, как видно из рис. 2, их активность превышала активность амтизола, особенно на моделях гиперкапнической и гемической гипоксий.

Ранее [2] сравнительное исследование амтизола и сукцината амтизола показало, что последний менее активен на модели гипобарической гипоксии, однако превышает антигипоксическое действие амтизола на модели гемической гипоксии. Изучение соединений, в структуру которых входит янтарная кислота (соединения 4 – 6), показало, что они менее активны, чем свободные основания (соединения 1 – 3), при этом соединения 4 и 6 проявляют умеренные антигипоксические свойства в сравнении с контролем (см. рис. 2). По данным [3] соединение 4 обладает выраженным гипогликемическим действием. Введение в молекулу соедине-

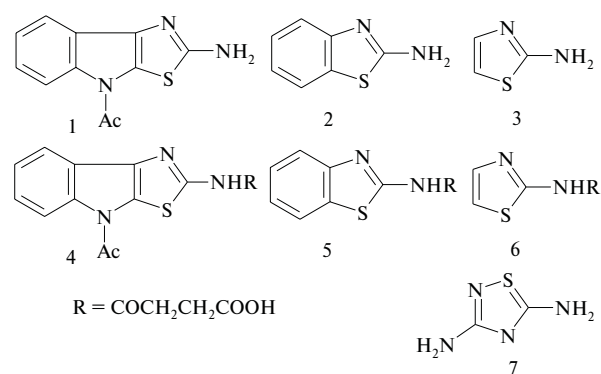


Рис. 1. Структурные формулы исследованных соединений.

ния 2 янтарной кислоты позволяет намного уменьшить острую токсичность.

ВЫВОДЫ

1. На модели гипобарической гипоксии антигипоксическая активность 2-амино-4-ацетилтиазоло[5,4-*b*]-индола (соединение 1) превышает действие антигипоксанта амтизола. При гиперкапнии антигипоксические свойства 2-аминобензтиазола (соединения 2) превышают таковые соединения 1; оба соединения эффективнее амтизола. При гемической гипоксии наибольшей активностью обладает соединение 1. На

Таблица 3. Влияние соединений 1 – 7 на продолжительность жизни мышей при гемической гипоксии

Препарат	Доза, мг/кг	Число животных	Время жизни, мин	Продолжительность жизни по отношению к контролю, %	Прирост выживаемости, %	K ₃
Физиологический раствор	—	7	29,83 ± 10,09	—	—	—
Соединение 1	50	10	60*	201,13	80**	1,80
Соединение 2	32,5	6	57,17 ± 12,21**	191,65	16,67*	1,17
Соединение 3	21,6	6	43,90 ± 19,26	147,17	16,67*	1,17
Соединение 4	64,3	6	33,56 ± 8,09	112,5	—	—
Соединение 5	54,1	6	25,65 ± 2,34	85,99	—	—
Соединение 6	43,3	6	29,42 ± 4,43	98,62	—	—
Соединение 7 (амтизол)	25	6	43,07 ± 7,21*	144,38	—	—

Таблица 4. Влияние соединений 1 – 7 на продолжительность жизни мышей при гистотоксической гипоксии

Препарат	Доза, мг/кг	Число животных	Время жизни, мин	Продолжительность жизни по отношению к контролю, %	Прирост выживаемости, %	LD ₅₀ , мг/кг
Физиологический раствор	—	6	23,44 ± 10,09	—	—	—
Соединение 1	50	6	31,35 ± 10,78	133,75	—	> 1000
Соединение 2	32,5	6	35,14 ± 16,37	149,91	—	112,5
Соединение 3	21,6	6	11,97 ± 2,45	51,06	—	1000
Соединение 4	64,3	6	13,82 ± 3,03	58,95	—	> 1000
Соединение 5	54,1	6	8,86 ± 2,36	37,86	—	> 1000
Соединение 6	43,3	6	12,14 ± 2,06	51,79	—	1000
Соединение 7 (амтизол)	25	6	39,22 ± 13,27*	167,32	—	337

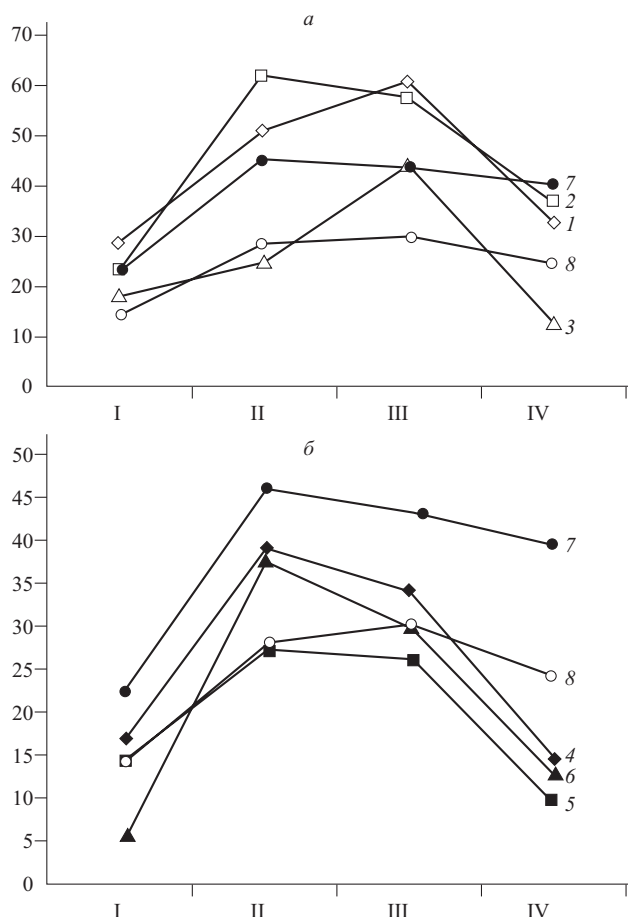


Рис. 2. Сравнительная эффективность соединений 1–3 (а) и соединений 4–6 (б) по видам гипоксии.

По оси абсцисс — виды гипоксии: I — гипобарическая; II — гиперкапническая; III — гемическая; IV — гистотоксическая; по оси ординат — время жизни, мин. 1 — Соединение 1; 2 — соединение 2; 3 — соединение 3; 4 — соединение 4; 5 — соединение 5; 6 — соединение 6; 7 — амтизол; 8 — контроль

гистотоксической модели повышение продолжительности жизни регистрируется только при введении амтизола.

2. Гомологи 2-аминотиазола (соединения 1–3) обладают выраженными антигипоксическими свойствами, которые увеличиваются в ряду $3 > 2 > 1$.

3. Введение в структурную формулу соединений янтарной кислоты значительно снижает их антигипоксическую активность на всех исследованных моделях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. В. Ивантер, А. В. Коросов, *Основы биометрии: Введение в статистический анализ биологических явлений и процессов*, Петрозаводск (1992).
2. В. Ф. Конев, А. Б. Томчин, В. М. Виноградов и др., А.с. 1584340 СССР, *Бюл. изобр.*, № 17, (1996).
3. О. Ф. Кочина, И. В. Зубкова, В. П. Черных, С. Н. Коноваленко, *Синтез, реакционная способность и биологическая активность производных 2-аминобензтиазола*, Издательство НФАУ, Харьков (2000).
4. Л. Д. Лукьянова, *Клеточные механизмы реализации фармакологического эффекта*, Москва (1990), сс. 184–216.
5. В. В. Марышева, П. Д. Шабанов, П. А. Торкунов и др., Патент РФ 2188824., *Бюл. изобр.* № 25, 380 (2002).
6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2000), сс. 153–158.
7. А. Б. Томчин, В. В. Марышева, *Материалы научн. конф. "Антигипоксанты и актопротекторы"*, ВМА, С.-Петербург, (1994), вып. 2, с. 99.
8. R. Fooguent, L. Anglada, and A. Sacristan. PCT Int. WO, Appl. 9637498 (1996); *Chem. Abstr.*, **126**(7), 8939v (1997).
9. Y. Hanasaki, T. Ide, and H. Watanabe, *Jpn Kokai*, № 08245384 (1996); *Chem. Abstr.*, **126**(2), 14744c (1997).

Поступила 11.11.03

ANTIHYPOXANT ACTIVITY IN A SERIES OF 2-AMINOTHIAZOLE HOMOLOGS

V. V. Marysheva and P. D. Shabanov

Department of Pharmacology, St. Petersburg State Military Medical Academy, ul. Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044 Russia

The antihypoxic activity of a series of 2-aminothiazole homologs and the related N-succinamic acids was studied on four hypoxia models. All 2-aminothiazoles possess antihypoxant properties, which increase with the complexity of the molecular structure. The attachment of a succinic acid fragment at the amino group reduced toxicity, but also decreased the antihypoxant activity of drugs.