

## РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

### АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ И ПРОТИВООТЕЧНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

В. В. Марышева, П. А. Торкунов, М. Б. Варлашова, А. В. Земляной, П. Д. Шабанов<sup>1</sup>

Изучали антигипоксическую и противоотечную активность новых производных индола и конденсированных систем: пиримидо-, тиазоло- и триазиноиндолов на моделях гипобарической гипоксической гипоксии и токсического отека легких. Выявлены соединения из числа производных тиазолоиндола и формилиндола, предотвращающие гибель животных в условиях гипоксии и в значительной степени предупреждающие формирование токсического отека легких. Активность указанных соединений сопоставима или превышает таковую стандартных противогипоксических и противоотечных средств.

**Ключевые слова:** гипоксия, токсический отек легких, индолы, тиазолоиндолы, пиримидоиндолы, триазиноиндолы

#### ВВЕДЕНИЕ

Гипоксия является одним из центральных компонентов патологического процесса при отеке легких. Однако систематических исследований защитных свойств антигипоксантов при остром отеке легких не проводилось. В этой связи представляется целесообразным изучение влияния антигипоксантов на течение отека легких.

В рамках поиска и изучения новых перспективных антигипоксантов исследовали эффективность ряда соединений, синтезированных на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии (рисунок). Все соединения содержат характерные для известных антигипоксантов гутимина, амтизола, бемитила фрагменты тиомочевины или изотиомочевины. Производные пиримидоиндола (соединения структуры I), формилиндола (соединения структуры II), тиазолоиндола (соединения структуры III и IV), N-(3-индолил)тиомочевины (соединение структуры V), триазиноиндола (соединения структуры VI) и 2-арилметил-3-индолинона (соединение структуры VII) тестировали на моделях гипобарической гипоксической гипоксии и токсического отека легких.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Получение пиримидоиндолов и формилиндолов описано в работе [11], тиазолоиндолов III в [2], тиазолоиндолов IV в [1], триазиноиндолов VI в [10], 2-амино-2-фенилметил-3-индолинона VII в [3]. Препарат V получали конденсацией 3-аминооксиндола с роданидом аммония и бензоилхлоридом.

Определение ЛД<sub>50</sub> исследуемых соединений проводили по методике [9]. Антигипоксическую активность изучали на мышах линии С57BL/6J массой 18 – 20 г. Гипобарическую гипоксическую гипоксию моделировали в барокамере “подъемом” животных на высоту 10000 м со скоростью 50 м/с и экспозицией на “плато” в течение 90 мин. Оценку защитного действия изучали по средней продолжительности жизни во время гипоксического эпизода и по выживаемости животных. Исследуемые препараты растворяли в дистиллированной воде (VI) или предварительно эмульгировали в твин-20 (I – V, VII) и вводили внутривентриально в объеме 0,3 мл за 30 мин до гипоксии. Оптимальную дозу препаратов выбирали на основании предварительных экспериментов с гипоксией. В качестве препарата сравнения использовали амтизол в дозе 25 мг/кг [7]. Животным контрольной группы вводили растворитель.

Эксперименты с токсическим отеком легких проводили на белых беспородных мышах-самцах массой 18 – 24 г. Отек легких моделировали путем ингаляции фосгена в дозе 4,2 мг · мин/л, что соответствует уровню поражения LCt<sub>50–84</sub>. Уровень поражения определяли по фактической гибели животных контрольной группы через 24 ч после отравления. Оценку результатов осуществляли через 3 и 24 ч после отравления. Определяли легочный коэффициент (ЛК), по которому судили о степени выраженности отека легких, и выживаемость животных через 24 ч после отравления. ЛК вычисляли по формуле:

$$\text{ЛК} = \frac{\text{масса легких (г)}}{\text{масса животного (г)}} \cdot 1000.$$

Препараты вводили внутривентриально за 30 – 60 мин до отравления животных в дозах 5 и

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

25 мг/кг в объеме 0,3 мл. Контрольные животные получали инъекцию растворителя. Выборка для каждой дозы препарата составляла 10 – 12 животных. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента (для показателей продолжительности жизни и величины ЛК) и точного метода Фишера (для показателей выживаемости) [4].

Таблица 1. Влияние конденсированных индолов на выживаемость и продолжительность жизни мышей при гипоксической гипоксии

Группа животных	Доза, мг/кг, в/б	Выживаемость животных, %	Продолжительность жизни, мин	Продолжительность жизни по отношению к контролю, %	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг
Контроль	–	0	8,7 ± 2,8	100,0	–
Амтизол	10	33*	7,7 ± 2,2	88,0	160
	25	100*	гибель не набл.	гибель не набл.	
I а	10	0	9,1 ± 1,3	104,7	> 1000
	25	0	5,8 ± 1,7	66,9	
I б	10	0	6,8 ± 1,3	77,8	> 1000
	25	17*	6,8 ± 1,4	78,4	
I в	10	0	5,2 ± 0,4	60,0	> 1000
	25	0	6,0 ± 0,7	69,1	
II а	10	17*	8,4 ± 1,6	96,8	> 1000
	25	33*	7,0 ± 1,8	80,7	
II б	10	0	3,6 ± 0,3	41,5	375
	25	0	11,3 ± 1,3	130,1	
	50	100*	гибель не набл.	гибель не набл.	
II в	10	17*	6,0 ± 1,2	69,2	> 1000
	25	33*	8,7 ± 4,9	99,7	
II г	20	0	5,5 ± 1,1	63,2	625
	50	0	3,4 ± 0,6	44,1	
III а	10	33*	11,9 ± 3,3	136,2	> 1000
	25	67*	39,46 ± 1,0**	453,6	
	50	100*	гибель не набл.	гибель не набл.	
III б	10	0	6,8 ± 0,7	77,70	> 1000
	25	33*	7,7 ± 2,0	88,4	
IV	10	0	6,8 ± 0,2	77,6	1030
	25	17*	6,5 ± 1,4	74,9	
V	20	0	3,7 ± 0,3	42,4	> 1000
	50	0	4,0 ± 0,3	46,0	
VI	Данные по антигипоксической активности получены в предыдущих исследованиях и опубликованы в работе [4]				
VII	20	0	9,0 ± 2,2	103,5	> 1000
	50	67*	7,0 ± 2,0	80,5	

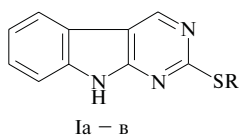
**Примечание.** Различия достоверны по отношению к контролю: \* —  $p < 0,01$ , \*\* —  $p < 0,001$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

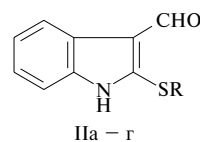
В результате исследования токсичности тестируемых соединений установлено, что ЛД<sub>50</sub> большинства из них (табл. 1) превышает 500 мг/кг, что позволяет отнести их к разряду умеренно токсичных веществ [8].

При исследовании антигипоксической активности веществ показано, что животные контрольной группы в условиях данной модели гипоксии погибают в 100 % случаев в среднем в течение  $8,7 \pm 2,8$  мин (см. табл. 1). Введение амтизола в дозе 10 мг/кг увеличивает выживаемость животных до 33 % ( $p < 0,01$ ), а в дозе 25 мг/кг — до 100 % ( $p < 0,01$ ), т.е. полностью предотвращает гибель животных в барокамере. Вещества структуры Ia, Ib, IIг и V ни в одной из использованных доз не проявили антигипоксической активности. Низкоэффективными оказались препараты структуры Ib и IV, увеличивавшие выживаемость до 17 % ( $p < 0,01$ ). Более эффективны соединения IIа, IIв и IIб, увеличивавшие выживаемость животных до 33 % ( $p < 0,01$ ) в максимальной из использованных доз (25 мг/кг). Соединение VII проявило выраженную антигипоксическую активность и при введении в дозе 50 мг/кг увеличивало выживаемость до 67 % ( $p < 0,01$ ). Наибольшей эффективностью при данном виде гипоксии обладали соединения IIб и IIIа. При их использовании в дозе 50 мг/кг удавалось полностью предотвратить гибель животных (выживаемость 100 %,  $p < 0,01$ ). Эффективность соединений IIб и IIIа сопоставима с эффективностью амтизола в дозе 25 мг/кг, так как при сравнении молекулярных масс соединений IIб (230) и IIIа (231,28) с амтизолом (116,1) видно, что они в два раза больше. При этом антигипоксическая активность соединения IIIа увеличивалась пропорционально повышению его дозы. При использовании данного соединения в дозе 25 мг/кг наряду с увеличением выживаемости до 67 % продолжительность жизни животных, погибших в барокамере в условиях гипоксии, увеличивалась в 4,5 раза (до  $39,5 \pm 0,8$  мин) и составляла 453,6 % по отношению к контролю ( $p < 0,001$ ). Вместе с тем токсичность данных соединений ниже токсичности амтизола. Таким образом, соединение IIб равно, а IIIа несколько превосходит препарат сравнения по антигипоксической активности на модели гипобарической гипоксии [5, 6].

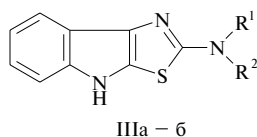
В результате исследования можно заключить, что соединения структуры I, IV, V (пиримидоиндолы, производное тиазолоиндола, производное N-(3-индолил)тиомочевинны) практически не проявляют антигипоксический эффект. Соединения структуры II (формилиндолы) и структуры III (тиазолоиндолы) обладают умеренной, а два из них (соединения IIб и IIIа) выраженной антигипоксической активностью. Соединение IV имеет схожее строение с IIIа, которое получено путем его дегидратации, однако при этом антигипоксическая активность соединения IV гораздо ниже, чем у IIIа.



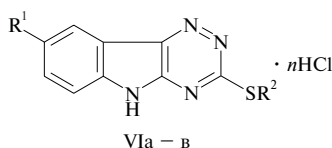
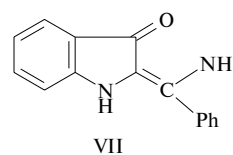
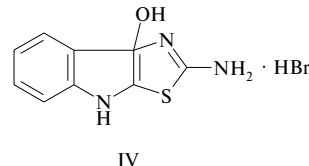
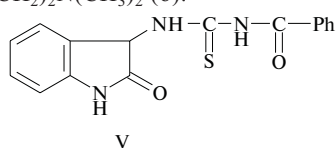
R = CH<sub>3</sub> (а); R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> (б);  
R = CH<sub>2</sub> - CH = CH<sub>2</sub> (в).



R = CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub> (а);  
R = (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (б);  
R = CH<sub>2</sub>CH = CH<sub>2</sub> (в);  
R = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (г).



R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H (а);  
R<sup>1</sup> = COCH<sub>3</sub>;  
R<sup>2</sup> = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (б).



R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, n = 1 (а);  
R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = 2-морфолиноэтил, n = 2 (б);  
R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = 2-морфолиноэтил, n = 2, гидрат (в).

Изучение противоотечной активности тестируемых препаратов показало следующее. При отравлении фосгеном выживаемость животных колеблется от 20 % до 60 % (табл. 2). При этом значения ЛК не коррелируют с показателями выживаемости и в наших экспериментах к третьему часу наблюдений соответствовали значениям  $10,2 \pm 0,6$  и  $11,0 \pm 0,8$ , а через сутки — значениям  $20,4 \pm 1,1$  и  $21,0 \pm 0,8$ . Использование всех тестируемых соединений в дозе 5 мг/кг не приводило к предупреждению нарастания ЛК у мышей через 3 и 24 ч после начала эксперимента. Вместе с тем введение животным соединения IIIa сопровождалось их 100 % выживанием по сравнению с контрольными животными, выживаемость которых составила 20 % ( $p < 0,025$ ). Введение мышам препаратов Ia, Ib, IIa, IIб, IIв, VIa, VIб, VIв, V также приводило к увеличению выживаемости, однако, недостоверному по сравнению с контрольным уровнем. У животных, получивших соединение IIIa и умерщвленных через 3 и 24 ч после отравления фосгеном, отмечались наименьшие в данной группе значения ЛК. Более информативными оказались эксперименты с использованием соединений в дозе 25 мг/кг. У животных, получивших соединение VII через 3 ч после отравления, ЛК определялся в диапазоне  $7,3 \pm 0,7$  и соответствовал таковому у интакт-

ных животных ( $8,2 \pm 0,5$ ), что достоверно ниже значений ЛК в контрольной группе —  $11,0 \pm 0,81$  ( $p < 0,05$ ). Использование соединений Ia, Ib, IIa, IIб, IIв, IIIa также сопровождалось уменьшением значений ЛК, однако недостоверным по сравнению с контрольными животными. Через 24 ч после отравления у животных, получивших соединения Ib, IIб, IIв, IIIa, IIIб, V, установлены достоверно более низкие значения ЛК ( $15,8 \pm 1,2$ ;  $12,8 \pm 1,5$ ;  $16,2 \pm 1,1$ ;  $12,7 \pm 1,1$ ;  $16,4 \pm 0,7$ ;  $15,6 \pm 1,4$ , соответственно) по сравнению со значением ЛК у контрольных животных —  $20,4 \pm 1,1$  ( $p < 0,05$ ). Кроме того, применение соединения IIIa сопровождалось 100 % выживаемостью животных по сравнению с 60 % в контрольной группе.

Полученные результаты позволяют заключить, что из исследованной группы соединений Ib, IIб, IIв, IIIa, IIIб и V в значительной степени предотвращают, а соединение VII замедляет формирование токсического отека легких, вызванного фосгеном. Наиболее эффективным в наших исследованиях явилось соединение IIIa: оно предотвращает как формирование токсического отека легких, так и смертность отравленных животных.

Известно, что при отеке легких, независимо от первичных механизмов возникновения синдрома, форми-

Таблица 2. Влияние конденсированных индолов на показатели легочного коэффициента (ЛК) и выживаемость мышей, отравленных фосгеном в дозе LCt<sub>50</sub> – 84

Группа животные	Токсодоза фосгена LCt <sub>84</sub> , доза препаратов 5 мг/кг			Токсодоза фосгена LCt <sub>50</sub> , доза препаратов 25 мг/кг		
	ЛК, отн. ед		Выживаемость, %	ЛК, отн. ед		Выживаемость, %
	3 ч	24 ч		3 ч	24 ч	
Интактные	8,2 ± 0,5		–	8,2 ± 0,5		–
Контроль	10,2 ± 0,6	21,0 ± 0,8	20	11,0 ± 0,8	20,4 ± 1,1	60
Ia	9,2 ± 0,4	21,3 ± 1,8	40	9,1 ± 0,3	17,5 ± 2,3	60
Iб	10,4 ± 0,7	24,4 ± 0,9	0	9,0 ± 1,1	15,8 ± 1,2*	80
Iв	8,8 ± 0,6	26,7 ± 2,1	40	8,6 ± 0,7	20,7 ± 1,3	40
IIa	12,4 ± 0,7	23,4 ± 1,2	40	10,9 ± 0,9	19,4 ± 1,3	40
IIб	10,1 ± 0,8	24,1 ± 1,6	40	10,0 ± 0,9	12,8 ± 1,5*	80
IIв	11,3 ± 1,3	24,1 ± 2,0	40	9,9 ± 0,8	16,2 ± 1,1*	80
IIIг	9,1 ± 1,0	21,9 ± 0,9	0	8,0 ± 0,9	17,6 ± 1,6	20
IIIa	8,9 ± 0,6	18,0 ± 1,4	100**	11,5 ± 0,9	12,7 ± 1,1*	100
IIIб	12,4 ± 0,5	21,9 ± 1,7	0	9,2 ± 0,5	16,4 ± 0,7*	40
IV	9,5 ± 0,9	21,8 ± 1,7	0	11,2 ± 0,7	18,6 ± 0,7	20
V	9,2 ± 1,1	20,3 ± 2,6	80	10,1 ± 1,2	15,6 ± 1,4*	40
VIa	н/о	22,8 ± 2,3	60	н/о	23,3 ± 0,9	40
VIб	н/о	22,0 ± 2,0	60	н/о	22,0 ± 2,1	0
VIв	н/о	20,9 ± 2,8	40	н/о	22,1 ± 2,0	40
VII	9,6 ± 1,3	21,1 ± 0,7	0	7,3 ± 0,7*	18,6 ± 0,6	20

**Примечание.** Различия достоверны по отношению к контролю: \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\* —  $p \leq 0,025$ ; н/о — определение показателя не проводилось.

руется состояние нарастающей гипоксической гипоксии. Оно характеризуется преобладанием анаэробных процессов над аэробными: усиливаются гликолиз и гликогенолиз, липолиз и перекисное окисление липидов, катаболизм аминокислот и выведение азота. Снижается активность реакций цикла Кребса и цепи транспорта электронов, преобладает распад макроэнергетических соединений над их синтезом. Несмотря на адаптивные изменения в тканях и крови при действии гипоксии различной длительности, в организме нарушается структура и функции биомембран, в частности, в митохондриях стимулируется образование свободнорадикальных дериватов. При этом формирование “порочного круга” может выглядеть следующим образом. Кислородное голодание снижает скорость синтеза поверхностно-активных веществ легких, уменьшает поверхностную активность сурфактанта. В свою очередь недостаток сурфактанта способствует формированию ряда патологических изменений в легких: ателектазу, выпоту жидкости в просвет альвеол, затрудняет кровоток через альвеолярные капилляры и диффузию газов. Можно предположить, что антигипоксанты, оптимизируя дыхательный метаболизм на клеточном уровне, смогут оказать защитное действие при отеке легких различного происхождения. Анализ полученных в наших экспериментах данных показал, что из соединений исследованного ряда наиболее выраженным противоотечным действием обладают те, которые проявляют и наиболее выраженную антигипоксическую активность. Это не означает,

что “эталонные” антигипоксанты могут быть использованы для предупреждения и лечения токсического отека легких. Проведенные нами ранее эксперименты с гутимином, амтизолом и бемитилом не подтвердили сколько-нибудь выраженной противоотечной эффективности этих препаратов. По всей видимости, способность истинных антигипоксантов уменьшать или купировать последствия кислородного голодания, не обладая при этом другими фармакологическими свойствами, недостаточна для проявления противоотечных свойств.

## ВЫВОДЫ

1. Конденсированные производные индола обладают выраженной противогипоксической и противоотечной активностью. Наибольшая фармакологическая активность выявлена у тиазолиндола IIIa и формилиндола IIб.

2. Противоотечная активность, как правило, проявляется у большинства антигипоксантов, но антигипоксическая активность не в полной мере обеспечивает противоотечный эффект.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. С. Вележева, А. И. Мельман, А. Б. Томчин и др. Патент РФ 2009127., *Бюл. изобр.*, № 4, 15 (1994).
2. В. С. Вележева, А. И. Мельман, А. Б. Томчин и др. Патент РФ 2076867., *Бюл. изобр.*, № 8, 38 (1997).
3. В. С. Вележева, В. Ю. Маштаков, *Химия гетероцикл. соединений*, № 4, 568 – 569 (1992).

4. Е. В. Гублер, А. А. Генкин, *Применение критериев непараметрической статистики в медико-биологических исследованиях*, Ленинград (1965).
5. В. В. Марышева, П. Д. Шабанов, Заявка 2000131822 (2000).
6. В. В. Марышева, П. Д. Шабанов, П. А. Торкунов, Заявка 2000131823 (2000).
7. *Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств*, Л. Д. Лукьянова (ред.), Москва, Б. И. (1990).
8. *Основы промышленной токсикологии*, Н. А. Толоконцев и В. А. Филатов (ред.), Ленинград, Медицина (1976).
9. В. Б. Прозоровский, *Фармакол. и токсикол.*, № 4, 494 – 502 (1978).
10. А. Б. Томчин, О. Ю. Урюпов, Т. И. Жукова и др., *Хим.-фарм. журн.*, № 3, 19 – 27 (1997).
11. А. Б. Томчин, В. В. Марышева, *Журн. орг. химии*, № 7, 1084 – 1092 (1999).

Поступила 21.05.2001

## ANTIHYPOXIC AND ANTIEDEMIC ACTIVITY OF NEW CONDENSED INDOLE DERIVATIVES

V. V. Marysheva, P. A. Torkunov, M. B. Varlashova, A. V. Zemplyanoi, and P. D. Shabanov

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

The antihypoxic and antiedemic activity of a series of new indole derivatives and condensed systems, including pyrimido-, thiazolo-, and triazinoindoles, was studied on the hypobaric hypoxic hypoxia ad toxic lung edema models. Several thiazoloindole and formylindole derivatives prevented the loss of experimental animals under hypoxia conditions and significantly reduced the toxic lung edema development. The pharmacological activity of these compounds was comparable with or exceeded that of the standard antihypoxic and antiedemic drugs.