ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-7-3-9

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 1,3-ДИГИДРО-2Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-2-ТИОНА

О. Н. Жуковская[1], А. А. Спасов[2, 3*], Н. А. Гурова[2], В. А. Косолапов[2], А. Ф. Кучерявенко[2], Д. С. Яковлев[2, 3], В. А. Бабкова[2], Д. А. Бабков[2], О. А. Салазникова[2], В. Ю. Муравьева[2], А. А. Бригадирова[2], Я. В. Агацарская[2, 3], В. В. Вишневская[2], А. С. Морковник[1]

Исследованы 11 производных 1,3-дигидро-2Н-бензимидазол-2-тиона (2-меркаптобензимидазола) на 10 видов биологической активности в условиях *in vitro*. Для всех соединений характерна NHE-1 ингибирующая активность. При изучении влияния на продолжительность рефрактерного периода изолированных предсердий крыс показано, что эффекты веществ АЖ-56 и АЖ-59 сопоставимы с эффектом этмозина. Соединения АЖ-53, АЖ-54, АЖ-55, АЖ-61 и АЖ-63 уступали этмозину, но превосходили хинидин в 4,3; 2,3; 3,4; 1,7 и 2,3 раза, соответственно ($p < 0,05$). На модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов вещества АЖ-55, АЖ-59 оказались активнее ацетилсалициловой кислоты на 19 и 22 % ($p > 0,05$). Для соединений АЖ-58, АЖ-60 характерно наличие умеренного антиоксидантного действия в концентрации 10^{-6} М в среднем на 24 % ($p < 0,05$). Все изученные вещества уступают трописетрону по выраженности блокирующего эффекта в отношении серотониновых 5-HT_3-рецепторов. Соединения АЖ-56 и АЖ-63 по ингибирующей активности в отношении DPP-4 сравнимы с ситаглиптином. Вещества не проявляют антигликирующий, AT_1- и 5-HT_{2A} антагонистический эффекты, не влияют на вязкость крови.

Ключевые слова: производные 1,3-дигидро-2Н-бензимидазол-2-тиона (2-меркаптобензимидазола); NHE-1 ингибирующая активность; рефрактерный период; антиагрегантное, антиоксидантное действие; DPP-4 ингибирующая активность; 5-HT_3, 5-HT_{2A}, AT_1-рецепторы; антигликирующий эффект; свертываемость крови.

ВВЕДЕНИЕ

Современные подходы к созданию новых лекарственных препаратов связаны с активно развивающейся концепцией "привилегированных подструктур", позволяющей исследователям более эффективно искать перспективные соединения для последующего изучения в качестве потенциальных лекарственных средств [2, 18, 21]. Термин "привилегированные структуры" впервые ввел B. E. Evans, et al. в 1988 г. [14] и определил как базовые структуры с универсальными связывающими свойствами, способные обеспечить эффективные и высокоселективные лиганды для целого ряда различных биологических мишеней за счет модификации функциональных групп. Бензимидазол является "привилегированной подструктурой" с широким потенциалом биологической активности [17]. Входит в состав многих биологически активных гетероциклических соединений, для него определен широкий спектр фармакологических эффектов, таких как противомикробный, противовирусный, противопаразитарный, противоопухолевый, противовоспалительный, антиоксидантный, гипотензивный, антикоагулянтный, иммуномодулирующий, антигистаминный. Среди производных бензимидазола найдены гормональные модуляторы, стимуляторы и депрессанты ЦНС, ингибиторы протонового насоса, модуляторы уровня липидов, противодиабетические соединения и т.д. [2, 3, 10, 17, 18]. Кроме того, производные бензимидазола являются структурными биоизостерами природных нуклеотидов, что позволяет им легко взаимодействовать с биополимерами в живой системе [17].

Оптимизация заместителей вокруг ядра бензимидазола привела к созданию ряда активных лекарственных препаратов, применяемых в настоящее время в клинике. Одним из таких подходов явился синтез производных 2-меркаптобензимидазола (1,3-дигидро-2Н-бензимидазол-2-тиона). В зарубежной литературе опи-

[1] НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, Россия, 344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/2.
[2] ФГБОУ ВО "Волгоградский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.
[3] Волгоградский медицинский научный центр, Россия, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.
* e-mail: aspasov@mail.ru

саны его антимикробные, антигельминтные, антигистаминные, противовоспалительные, противотуберкулезные, антиоксидантные, антидиабетические свойства [13, 15, 16, 19].

В России активно изучают производные 1,3-дигидро-2H-бензимидазол-2-тиона. Известно, что актопротекторное средство этилтиобензимидазола гидробромид (бемитил) обладает ноотропным, антигипоксическим эффектами. В НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАН длительное время изучают производные 2-меркаптобензимидазола — афобазол и брадизол. Афобазол (5-этокси-2-(2-морфолиноэтилтио)-1H-бензо[*d*]бензимидазола дигидрохлорид) оказывает анксиолитическое, нейропротекторное действие; обладает антирадикальным и вазопротекторным эффектами, проявляет антиаритмические и противоишемические свойства [5 – 7, 9, 12]. Брадизол (2-(5-этокси-1H-бензо[*d*]имидазол-2-илтио)-N,N-диэтилэтанамин) (отнесен к специфическим брадикардическим средствам — V класс антиаритмических средств) обладает выраженным антиаритмическим, противофибрилляторным и противоишемическим действием [4, 12].

Литературные данные свидетельствуют о том, что для производных 1,3-дигидро-2H-бензимидазол-2-тиона характерны нейро- и кардиотропные эффекты, которые реализуются не только на уровне рецепторов, но и опосредовано коррекцией метаболических нарушений.

В НИИ физической и органической химии Южного Федерального университета модифицировали базовую структуру бензимидазола и синтезировали 11 фармацевтических субстанций ряда 1,5- и 2,5-замещенных 1,3-дигидро-2H-бензимидазол-2-тиона. Целью настоящего исследования явилось изучение фармакологического профиля новых соединений с учетом актуальных механизмов действия и определение перспективы дальнейших исследований.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кардиотропные эффекты соединений оценивали по влиянию на рефрактерный период миокарда предсердий крыс, NHE-1-ингибирующее действие и подавление серотониновых 5-HT_3-рецепторов изолированных предсердий морской свинки.

Влияние на продолжительность рефрактерного периода оценивали *ex vivo* по влиянию на усвоение навязанного ритма изолированными предсердиями крыс [3]. Об активности веществ судили по минимальной эффективной концентрации (МЭК), препятствующей навязыванию ритму в течение 15 с. Исследования проводили в диапазоне концентраций 10^{-5} – 10^{-3} М (установка для работы с изолированными органами (Ugo Basile, Италия). В качестве препарата сравнения использовали хинидин (Sigma, США) и этмозин (ГУ НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН, Россия).

Ишемическая активация натрий-водородного обменника вызывает перегрузку клеток кальцием, приводящую к повреждению клеток сердца и мозга. Селективное ингибирование NHE-l сарколеммы может уменьшить ишемические/реперфузионные нарушения и улучшить восстановление функции органов после повреждения [11]. Для изучения ингибирующего влияния соединений на активность Na^+/H^+-обменника типа 1 (natrium/hydrogen exchanger-1 — NHE-1) использован метод *in vitro* на тромбоцитах кролика [3]. Изменения формы тромбоцитов регистрировали по изменению светопропускания плазмы, богатой тромбоцитами, с помощью лазерного агрегометра “БИОЛА-220 ЛА”, Россия. Исследования соединений и препарата сравнения проводили в концентрации 10^{-8} М. В качестве препарата сравнения использовали селективный ингибитор NHE-1 зонипорид (Sigma, США) 10^{-8} М.

Серотонин способен активировать клетки миокарда, усиливать нарушение ритма, усугублять повреждение миокарда вплоть до некроза. Препараты, снижающие влияние серотонина, оказывают кардиопротекторное действие [22]. Первоначальные гемодинамические эффекты серотонина на сердце связаны с кратковременной гипотензией из-за брадикардии, вызванной активацией 5-HT_3-рецепторов чувствительных нервных окончаний блуждающего нерва сердца [22]. Антагонистический эффект соединений в отношении серотониновых 5-HT_3-рецепторов изучали *in vitro* на изолированных предсердиях морских свинок. М-холиномиметическое действие исключали добавлением в питательный раствор Кребса атропина сульфата в конечной концентрации 10^{-6} М (Sigma, США) [3]. Уровень 5-HT_3-блокирующей активности определяли по изменению выраженности положительного хронотропного эффекта, вызванного серотонином. Все вещества исследовали в концентрации 10^{-6} М. В качестве препарата сравнения использовали трописетрон (Sigma, США) в концентрации 10^{-6} М [3].

Сосудистые эффекты соединений оценивали по степени блокирования AT_1- и 5-HT_{2A}-рецепторов.

Изучение антагонистической активности в отношении AT_1-рецепторов проводили на модели индуцированного ангиотензином II (Sigma, США) сокращения изолированной портальной вены крыс [3]. Все вещества исследовали в концентрации 10^{-5} М. О выраженности AT_1-блокирующего действия судили по изменению спазмогенного эффекта под действием ангиотензина II в контрольном и опытном измерениях. В качестве препарата сравнения использовали селективный антагонист AT_1-рецепторов — лозартан (Sigma, США) в концентрации 10^{-5} М [3].

Исследование блокирующего эффекта в отношении серотониновых 5-HT_{2A}-рецепторов проводили на модели серотонин-индуцированной сократительной активности изолированных рогов матки крыс [1]. Изучаемые вещества исследовали в концентрации 10^{-6} М. В качестве препарата сравнения использовали кетансерин (Sigma, США) в концентрации 10^{-6} М [3]. О степени 5-HT_{2A}-антагонистической активности исследуемых веществ судили по изменению спазмогенного эффекта серотонина в контрольном и опытном измерениях (Δ%).

Все исследования с изолированными органами и тканями проводили с использованием одноканальной ванны для работы с изолированными органами и тканями, изотонического датчика 7006 и самописца Unirecord (Ugo Basile, Италия). В условиях сердечно-сосудистой патологии происходит активация прооксидантной системы, повышается свертываемость крови и ухудшается гемореологический профиль. Поэтому дополнительно определяли наличие антиоксидантной и антиагрегантной активности, а также влияние на вязкость крови.

Антиоксидантный эффект соединений изучали в экспериментах *in vitro* на модели аскорбат-зависимого перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3]. О скорости окисления судили по накоплению малонового диальдегида в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Fluka, Швейцария). Активность веществ оценивали в % по отношению к пробе без соединения по результатам 3 независимых экспериментов. Пробы фотометрировали в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см при $\lambda = 532$ нм на цифровом спектрофотометре Apel PD-303UV (Япония). В качестве препарата сравнения использовали дибунол (Merck, Германия) в концентрации 10^{-6} М [3]. Изучение влияния соединений на функциональную активность тромбоцитов *in vitro* проводили согласно методу G. Born в модификации В. А. Габбасова (1989) на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов “Биола” [3]. Соединения исследовали в концентрации 10^{-4} М. Активность веществ определяли по снижению агрегации тромбоцитов по отношению к контролю (в %). В качестве препарата сравнения использовали кислоту ацетилсалициловую (Sigma, США) в концентрации 10^{-4} М.

Влияние соединений на вязкость крови кролика изучали в условиях моделирования синдрома повышенной вязкости крови *in vitro* [3]. Влияние веществ на агрегацию эритроцитов изучали по изменению индекса агрегации, рассчитываемому как отношение показателя вязкости крови при скорости сдвига 10 $с^{-1}$ к вязкости крови при 300 $с^{-1}$. Вещества исследовали в концентрации 10^{-4} М. В качестве препарата сравнения использовали пентоксифиллин (Aventis, Германия) в концентрации 10^{-4} М. Вязкость крови измеряли на вискозиметре АКР-2 (Россия). Отдельный интерес представляет изучение наличия метаботропных эффектов, характерных для производных бензимидазола.

Оценки способности соединений ингибировать дипептидилпептидазу типа 4 (dipeptidylpeptidase-4, DPP-4) в условиях *in vitro* проводили по методу, описанному ранее [20], по способности гидролизовать 4-нитрофенил-Гли-Про-анилид. Вещества исследовали в концентрации 10^{-4} М. В качестве препарата сравнения был выбран ситаглиптин (Merck Sharp&Dohme, Нидерланды) в концентрации 10^{-4} М. Эксперименты проводили в формате 96-луночного планшета с определением на мультифункциональном устройстве Infinite M200 Pro (Tecan, Австрия).

Антигликирующую активность изучали по реакции гликирования бычьего сывороточного альбумина глюкозой [3]. Вещества исследовали в конечной концентрации 10^{-3} М. Антигликирующую активность рассчитывали по показателю флуоресценции контрольных и опытных образцов. Специфическую флуоресценцию гликированного бычьего сывороточного альбумина определяли на спектрофлуориметре MPF-400 (Hitachi, Япония). В качестве вещества сравнения использовали аминогуанидин (Sigma, США) в концентрации 10^{-3} М.

При выборе концентраций для исследования рецепторной активности новых химических веществ мы ориентировались на фармакологически эффективные в условиях экспериментальной модели концентрации эталонного вещества сравнения. При проведении исследований по описанным видам активности все соединения и препараты сравнения были изучены в 6 повторах на точку.

Исследования провели на 80 белых неинбредных крысах обоего пола массой 200 – 300 г, 30 морских свинках массой 260 – 300 г (ООО “НПК БиоТех”, ветеринарное свидетельство 250 № 0728190 от 05.02.2018), 35 кроликах-самцах породы шиншила массой 2,5 – 3,5 кг (ФГУП ОПХ “Манихино”, ветеринарное свидетельство 250 № 0914021 от 23.01.2018). Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 № 51 “Об утверждении СП 2.2.1.3218 – 14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)”. На момент проведения исследований животные были здоровыми, без изменений поведения, аппетита, режима сна и бодрствования. Декапитацию крыс, находящихся под хлоралгидратным наркозом, проводили согласно правилам “Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств”, своевременно, без причинения страданий, в помещении, где не содержались другие животные.

Исследование проведено в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); Приказом МЗ РФ № 199Н от 01 апреля 2016 г., Principlesof Good Laboratory Practice (OECD, ENV/ MC/ CUEM (98)17, 1997); ГОСТ 33044-2014 “Принципы надлежащей лабораторной практики” (идентичен GLPOECD); Good Laboratory Practicefor Nonclinical Laboratory Studies (21 CFRPart 58, 1978, USA, FDA); Good Laboratory Practice Standards (Ordinance № 21, 1997, Japan, MHW), со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. №

61-ФЗ “Об обращении лекарственных средств” (ред. от 22.10.2014); Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [14]. Эксперименты были проведены в соответствии с рекомендациями Этического комитета ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (протоколы № 126 – 2011 от 02.02.11; № 154 – 2012 от 12.03.12; № 2016 – 2015 от 05.06.15; № 2032 – 2016 от 25.11.15; № 2086 – 2018 от 20.12.18).

Статистические расчеты проводили с помощью попарного сравнения выборок с использованием *U*-критерия Манна — Уитни в пакете программ Statistica 6.0 (StatsoftInc.). Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучено 11 субстанций ряда 1,5- и 2,5-замещенных 2-тиобензимидазолов (1,3-дигидро-2Н-бензимидазол-2-тиона) на 10 видов фармакологической активности. Структуры исследуемых соединений представлены в табл. 1. Соединения АЖ-53-59 содержат диалкиламиноалкильную группу либо в первом положении замещенного 2-меркаптобензимидазола (1,3-дигидро-2Н-бензимидазол-2-тиона), например, АЖ-59, либо во втором — соединения АЖ-53-58. В структуру соединений АЖ-60-63 введен 2-(2-гидроксиэтил)тиольный фрагмент, содержащий метильный, *трет*-бутильный или *пара*-бромфенильный заместители в альфа-положении к гидроксилу. Кроме того, в положении 5 бенимидазола присутствуют либо алкокси-, либо метильная группы.

Ранее нами был проведен анализ влияния типа базовой структуры на рефрактерность миокарда (способность увеличивать продолжительность рефрактерного периода) предсердий крыс 301 испытанных оригинальных производных конденсированных и неконденсированных бензимидазолов методом кластерного анализа. Определены границы классов активности (“высокоактивные” — МЭК < $7,25 \cdot 10^{-5}$ М; умеренно-активные — $7,25 \cdot 10^{-5}$ М ≤ МЭК < $2,79 \cdot 10^{-4}$ М; низкоактивные — МЭК ≥ $2,79 \cdot 10^{-4}$ М), найдены значимые признаки ее высокого уровня [21].

Поэтому оценивали влияния новых производных 2-тиобензимидазолов на продолжительность рефрактерного периода предсердий крыс именно из этих позиций.

Было показано, что к высокоактивным относятся соединения АЖ-56 и АЖ-59, умеренноактивным — АЖ-53, АЖ-54, АЖ-55, АЖ-61 и АЖ-63, низкоактивными — АЖ-57, АЖ-58, АЖ-60, АЖ-62.

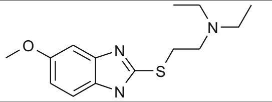
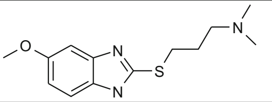
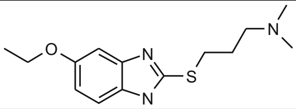
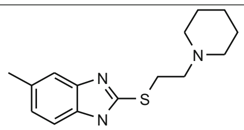
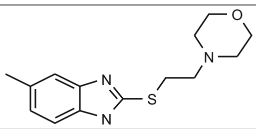
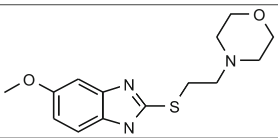
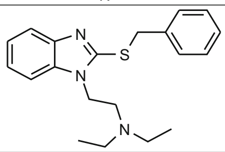
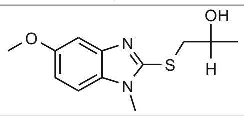
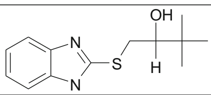
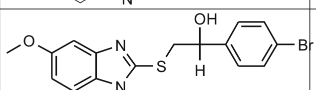
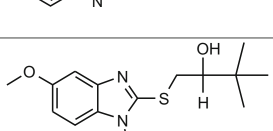
Эффекты соединений АЖ-56, содержащего 2-(пиперидин-1-ил)этилтиольную группу в положении 2, и АЖ-59, содержащего диэтиламиноэтильную группу в положении 1, сопоставимы с активностью этмозина ($p > 0,05$) (табл. 1). Соединение, содержащее диэтиламиноэтильную группу в (АЖ-53) положении 2, хотя и проявило умеренную активность, статистически незначимо ($p > 0,05$) уступало этмозину. Результат подтверждает выдвинутое нами ранее положение о положительном влиянии данных заместителей на высокий уровень данного вида активности [21]. АЖ-53 и АЖ-59 превосходили хинидин в 4,3 и 5,7 раза соответственно ($p < 0,05$).

Соединения АЖ-54, АЖ-55, содержащие 3-(N,N-диметиламино)пропилтиольную группу в положении 2, АЖ-61 и АЖ-63, содержащие в боковой цепи *трет*-бутильный радикал, статистически значимо уступали этмозину, но превосходили хинидин в 2,3; 3,4; 1,7; 2,3 раза соответственно ($p < 0,05$). При изучении NHE-1-ингибирующей активности было показано, что все соединения обладают данным видом активности, различия по величине Δ% изменению светопропускания плазмы, богатой тромбоцитами, статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$). Соединения АЖ-56, АЖ-54, АЖ-53, замещенные по атому серы соответственно 2-(пиперидин-1-ил)этильной, 3-(N,N-диметиламино)пропильной и 2-(N,N-диэтиламино)этильной группой, превосходили препарат сравнения зонипорид по ингибирующей активности в дозе 10^{-8} М соответственно в 1,5; 1,3; 1,3 раза (табл. 1) ($p > 0,05$). Показано, что активность соединений АЖ-55, АЖ-62, АЖ-63, АЖ-58, содержащих в боковой цепи в положении 2 3-(N,N-диметиламино)пропильный, *пара*-бромфенильный, *трет*-бутильный, 2-(морфолин-1-ил)этильный заместители, соответственно, сопоставима с активностью препарата сравнения. Соединения АЖ-57, АЖ-61 оказались малоактивными.

На модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов соединения АЖ-55, АЖ-59, содержащие заместители диалкиламиноалкильного типа — 3-(N,N-диметиламино)пропилтиольный во втором и 2-(N,N-диэтиламино)этильный в первом положении, соответственно, — недостоверно превосходили ацетилсалициловую кислоту по своей активности на 19 и 22 % соответственно (табл. 2). Соединения АЖ-53, АЖ-54, АЖ-60, АЖ-61, АЖ-62, АЖ-63 продемонстрировали антиагрегантные свойства, сопоставимые с действием препарата сравнения. АЖ-56, АЖ-57, АЖ-58, содержащие 2-(морфолин-1-ил)этильную или 2-(пиперидин-1-ил)этильную группу, проявили незначительный антиагрегантный эффект. У соединений не обнаружили блокирующего эффекта в отношении ангиотензиновых AT_1- и серотониновых 5-HT_{2A}-рецепторов (табл. 1).

По результатам исследования 5-HT_3-антагонистического действия было показано, что соединения АЖ-53, АЖ-56, АЖ-57, АЖ-58, АЖ-61, АЖ-62, АЖ-63 демонстрируют умеренный уровень активности относительно контрольных измерений, при этом статистически значимо не отличаются от действия трописетрона. Остальные соединения являются либо низкоактивными, либо не проявляют 5-HT_3-блокирующих свойств (табл. 2).

Таблица 1. **Сердечно-сосудистые эффекты производных 2-меркаптобензимидазола (1,3-дигидро-2Н-бензимидазол-2-тиона) ($M \pm m$)**

№	Соединение	Химическая структура	Влияние на рефрактерный период кардиомиоцитов, МЭК, М	NHE-1-ингибирующая активность, Δ% (10^{-8} М)	5-HT$_3$-антагонистическая активность, Δ% (10^{-6} М)	Изменение сосудистого спазмогенного эффекта ангиотензина II, Δ% (10^{-5} М)	5-HT$_{2A}$-блокирующая активность, Δ% (10^{-6} М)
1	АЖ-53		0,00008 ± 0,00001$^{\#\#}$	59,84 ± 7,46*	– 15,2 ± 4,8*	-12,54 ± 0,44*	– 1,04 ± 0,6$^{\#}$
2	АЖ-54		0,00015 ± 0,00002$^{\#,\#\#}$	60,23 ± 9,03*	– 10,9 ± 5,2	0	– 4,49 ± 2,1$^{\#}$
3	АЖ-55		0,0001 ± 0,00001$^{\#,\#\#}$	58,65 ± 11,54*	– 6,0 ± 4,3$^{\#}$	0	…
4	АЖ-56		0,000045 ± 0,00001$^{\#\#}$	73,00 ± 14,71*	– 22,9 ± 6,0*	0	– 4,60 ± 1,5$^{\#}$
5	АЖ-57		0,0004 ± 0,00002$^{\#}$	36,06 ± 8,06*	– 20,3 ± 2,1*	0	…
6	АЖ-58		0,0004 ± 0,00002$^{\#}$	45,10 ± 12,33*	– 24,1 ± 3,7*	0	– 11,5 ± 2,7*$^{\#}$
7	АЖ-59		0,00006 ± 0,00001$^{\#\#}$	…	– 6,3 ± 4,8$^{\#}$	…	…
8	АЖ-60		0,0005 ± 0,0001$^{\#}$	…	-9,4 ± 4,8$^{\#}$	…	…
9	АЖ-61		0,0002 ± 0,00002$^{\#,\#\#}$	41,79 ± 7,23*	-21,4 ± 6,3*	0	-17,13 ± 3,4*$^{\#}$
10	АЖ-62		0,0005 ± 0,0001$^{\#}$	50,14 ± 13,59*	-23,1 ± 3,3*	0	
11	АЖ-63		0,00015 ± 0,00002$^{\#,\#\#}$	55,80 ± 3,24*	– 19,2 ± 6,1*	0	– 2,24 ± 0,6$^{\#}$
12	Этмозин		0,000051 ± 0,00001$^{\#\#}$	…	…	…	…
13	Хинидин		0,00034 ± 0,00001$^{\#}$	…	…	…	…
14	Зонипорид	…	…	48,05 ± 7,09*	…	…	…
15	Трописетрон	…	…		– 30,2 ± 4,0*	…	…
16	Лозартан	…	…		…	– 100 ± 0,5*	…
17	Саралазин	…	…		…	– 85,35 ± 1,06*	…
18	Кетансерин	…	…		…	…	– 71,32 ± 3,5*

Примечания: — отсутствие эффекта; … — нет данных.
Различия статистически значимы ($p < 0,05$) по сравнению с: * контролем, $^{\#}$ препаратом сравнения (для этмозина — $^{\#}$, для хинидина — $^{\#\#}$).

Таблица 2. **Антигликирующий, DPP-4 ингибирующий, антиагрегантный и антиоксидантный эффекты, влияние на вязкость крови производных 2-меркаптобензимидазола (1,3-дигидро-2H-бензимидазол-2-тиона) ($M \pm m$)**

№	Соединение	Антигликирующая активность (ингибирование флуоресценции БСА), 10^{-3} М, Δ%	DPP-4 ингибирующая активность (10^{-4} М)	Влияние на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов, Δ% (10^{-4} М)	Изменение индекса агрегации эритроцитов, Δ% (10^{-4}М)	Антиоксидантная активность, % ингибирования (10^{-6} М)
1	АЖ-53	$0{,}00 \pm 0{,}00^{\#}$	$-40{,}95 \pm 9{,}38^{*}$	$29{,}96 \pm 6{,}31^{*}$	$1{,}77 \pm 2{,}39^{\#}$	
2	АЖ-54	$0{,}85 \pm 0{,}54^{\#}$	$-26{,}21 \pm 15{,}75^{\#}$	$28{,}97 \pm 1{,}32^{*}$	$-2{,}02 \pm 3{,}46$	-
3	АЖ-55	$0{,}43 \pm 0{,}43^{\#}$	$-41{,}11 \pm 10{,}16$	$38{,}91 \pm 10{,}58^{*}$	$5{,}56 \pm 2{,}98^{\#}$	-
4	АЖ-56	$0{,}00 \pm 0{,}00^{\#}$	$-74{,}55 \pm 9{,}40^{*}$	$19{,}26 \pm 4{,}99^{*}$	$-0{,}33 \pm 1{,}53$	$8{,}14 \pm 2{,}18^{\#}$
5	АЖ-57	$11{,}40 \pm 4{,}91^{\#}$	…	$22{,}44 \pm 3{,}39^{*}$	$0{,}85 \pm 5{,}58^{\#}$	…
6	АЖ-58	$0{,}00 \pm 0{,}00^{\#}$	$-32{,}55 \pm 14{,}04^{*\#}$	$19{,}29 \pm 2{,}32^{*}$	$1{,}85 \pm 2{,}30^{\#}$	$25{,}19 \pm 7{,}59^{*}$
7	АЖ-59	…	…	$40{,}01 \pm 7{,}74^{*}$	$-4{,}97 \pm 2{,}04$	-
8	АЖ-60	…	…	$27{,}61 \pm 6{,}63^{*}$	$0{,}92 \pm 1{,}04^{\#}$	$23{,}86 \pm 4{,}86^{*}$
9	АЖ-61	$30{,}20 \pm 9{,}01^{*\#}$	$-35{,}28 \pm 11{,}54^{*\#}$	$26{,}14 \pm 4{,}42^{*}$	$21{,}56 \pm 2{,}65^{*\#}$	-
10	АЖ-62	$7{,}41 \pm 3{,}43^{\#}$	$-18{,}10 \pm 11{,}54^{\#}$	$29{,}80 \pm 8{,}81^{*}$	$1{,}13 \pm 3{,}16^{\#}$	$10{,}99 \pm 13{,}20$
11	АЖ-63	$0{,}00 \pm 0{,}00^{\#}$	$-82{,}51 \pm 4{,}42^{*}$	$32{,}97 \pm 2{,}11^{*}$	$6{,}60 \pm 1{,}82^{\#}$	$8{,}18 \pm 4{,}78^{\#}$
12	Аминогуанидин (10^{-3} М)	$70{,}68 \pm 5{,}71^{*}$	…	…	…	…
13	Ситаглиптин (10^{-4} М)	…	$-87{,}96 \pm 1{,}61^{*}$	…	…	…
14	Кислота ацетилсалициловая (10^{-4} М)	…	…	$32{,}8 \pm 4{,}6^{*}$	…	…
15	Пентоксифиллин (10^{-4} М	…	…	…	$-18{,}61 \pm 3{,}83^{*}$	…
16	Дибунол (10^{-6} М)	…	…	…	…	$38{,}2 \pm 1{,}01^{*}$

Примечания:
“-” — отсутствие эффекта; “…” — нет данных.
Различия статистически значимы ($p < 0{,}05$) по сравнению с: * контролем, # препаратом сравнения.

В ходе эксперимента показано, что большинство изученных соединений не влияют на вязкость крови. Соединение АЖ-61 даже повышает вязкость крови и увеличивает индекс агрегации эритроцитов на 21,56 % ($p = 0{,}001$) (табл. 2).

В ходе исследования веществ на модели аскорбат-зависимого ПОЛ установлено, что соединения АЖ-58 и АЖ-60 проявили статистически значимые по отношению к контролю антиоксидантные свойства (табл. 2). Однако они были менее активны, чем препарат сравнения дибунол. При изучении антигликирующей активности установлено, что только вещество АЖ-61 достоверно по отношению к контролю снижает специфическую флуоресценцию гликированного бычьего сывороточного альбумина на 30 %, уступая препарату сравнения аминогуанидину. Остальные соединения не оказывают влияния на образование конечных продуктов гликирования (табл. 2).

Среди изученных соединений вещество под шифром АЖ-56, содержащее 2-(пиперидин-1-ил)этилтиольную группу в положении 2, и АЖ-63, содержащее в боковой цепи *трет*-бутильный радикал, проявляют DPP-4 ингибирующую активность, сопоставимую с препаратом сравнения ситаглиптином, а соединения АЖ-53, АЖ-58, АЖ-61 уступают ему. Соединения АЖ-54, АЖ-55, АЖ-62 — не активны (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, 11 субстанций ряда 1,5- и 2,5-замещенных 1,3-дигидро-2H-бензимидазол-2-тионов (2-меркаптобензимидазолов) исследовали на 10 видов биологической активности. Большинство субстанций проявляют антиагрегантную (10^{-4} М) и NHE-1-ингибирующую активность (10^{-8} М), удлиняют продолжительность рефрактерного периода (10^{-5} – 10^{-4} М) изолированных предсердий крыс. Для некоторых исследованных соединений характерно наличие умеренного антиоксидантного действия (10^{-6} М), а также блокирующей активности в отношении серотониновых 5-HT_3-рецепторов (10^{-6} М). Найдены соединения с DPP-4 ингибирующим действием (10^{-4} М). У синтезированных соединений не обнаружили антигликирующего, AT_1- и 5-HT_{2A}-антагонистических эффектов, а также влияния на вязкость крови.

Синтез фармацевтических субстанций выполнен при финансовой поддержке Министерства образования и науки № 4.5821.2017/8.9 и проводился с использованием оборудования ЦКП Южного федерального университета.

Фармакологическая часть исследований выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект 14-25-00139).

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. Блаттнер, Х. Классен, Х. Денерт, Х. Деринг, *Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц*, Мир, Москва (1983).
2. П. М. Васильев, А. А. Спасов, В. Ю. Муравьева и др., *Вестник ВолгГМУ*, **58**(2), 87 – 90 (2016).
3. О. Н. Жуковская, В. А. Анисимова, А. А. Спасов и др., *Хим.-фарм. журнал*, **51**(3), 20 – 24 (2017); *Pharm. Chem. J.*, **51**(3), 182 – 186 (2017).
4. Н. В. Каверина, Г. Г. Чичканов, И. Б. Цорин, *Эксперим. клин. фармакол.*, **67**(5), 8 – 17 (2004).
5. С. А. Крыжановский, В. Н. Столярук, М. Б. Вититнова и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **149**(3), 290 – 293 (2010).
6. Р. С. Мирзоян, Т. С. Ганьшина, Н. А. Хайлов, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(5), 2 – 7 (2010).
7. Ф. Г. Разумная, Ф. Х. Камилов, О. М. Капулер, Н. А. Муфазалова, *Фундам. исслед.*, № 7, 848 – 855 (2014).
8. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Ч. 1, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2012).
9. С. Б. Середенин, И. Б. Цорин, М. Б. Вититнова и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **155**(6), 723 – 727 (2013).
10. А. А. Спасов, И. Н. Иёжица, Л. И. Бугаева, В. А. Анисимова, *Хим.-фарм. журн.*, **33**(5), 6 – 17 (1999).
11. А. А. Спасов, В. Ю. Муравьева, Н. А. Гурова и др, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(10), 3 – 7 (2017).
12. А. И. Турилова, Т. Я. Можаева, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(5), 8 – 11 (2010).
13. A. Anand, M. V. Kulkarni, S. D. Joshi, S. R. Dixit, *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **26**(19), 4709 – 4713 (2016).
14. B. E. Evans, K. E. Rittle, M. G. Bock, et al., *J. Med. Chem.*, **31**(12), 2235 – 2246 (1988).
15. K. M. Hosamani, R. V. Shingalapur, *Arch. Pharm.*, **344**(5), 311 – 319 (2011).
16. S. Kankala, R. K. Kankala, P. Gundepaka, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **28**(5), 1306 – 1309 (2013).
17. R. S. Keri, A. Hiremathad, S. Budagumpi, B. M. Nagaraja, *Chem. Biol. Drug Des.*, **86**(1), 19 – 65 (2015).
18. J. Kim, H. Kim, S. B. Park, *J. Am. Chem. Soc.*, **136**(42), 14629 – 14638 (2014).
19. A. Mavrova, D. TsYancheva, N. Anastassova, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **23**(19), 6317 – 6326 (2015).
20. A. A. Spasov, D. A. Babkov, V. A. Sysoeva, et al., *Archiv Pharmazie*, **350**(12), e1700226 (2017).
21. P. M. Vassiliev, A. A. Spasov, V. A. Kosolapov, et al., *Consensus Drug Design Using IT Microcosm*, in: Application of Computational Techniques in Pharmacy and Medicine, L. Gorb, V. Kuz'min, E. Muratov (eds.), Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics, J. Leszczynski. (ed.), Vol. 17, Springer Science + Business Media, Dordrecht (Netherlands) (2014), pp. 369 – 431.
22. D. S. Yakovlev, A. A. Spasov, D. V. Mal'tsev, V. A. Anisimova, *Bul. Exp. Biol. Med.*, **157**(3), 350 – 355 (2014).

Поступила 22.06.19

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF 1,3-DIHYDRO-2H-BENZIMIDAZOLE-2-THIONE DERIVATIVES

O. N. Zhukovskaya[1], A. A. Spasov[2,3*], N. A. Gurova[2], V. A. Kosolapov[2], A. F. Kucheryavenko[2], D. S. Yakovlev[2,3], V. A. Babkova[2], D. A. Babkov[2], O. A. Salaznikova[2], V. Yu. Murav'eva[2], A. A. Brigadirova[2], I. V. Agatsarskaya[2,3], V. V. Vishnevskaya[2], and A. S. Morkovnik[1]

[1] Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, ul. Stachki 194/2, Rostov-on-Don, 344090 Russia

[2] Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

[3] Volgograd Medical Science Center, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

* e-mail: aspasov@mail.ru

A series of eleven derivatives of 1,3-dihydro-2H-benzimidazole-2-thione (2-mercaptobenzimidazole) were synthesized and studied for ten types of biological activity *in vitro*. NHE-1 inhibitory activity is found to be characteristic of all compounds. Study of the drug effect on duration of the refractory period of isolated rat atrials showed that the effect of compounds AZH-56 and AZH-59 was comparable with the effect of ethmozine. Compounds AZH-53, AZH-54, AZH-55, AZH-61, and AZH-63 were inferior to ethmozine, but superior in comparison to quinidine (4.3, 2.3, 3.4, 1.7, and 2.3 times, respectively, $p < 0,05$). Compounds AZH-55 and AZH-59 were more active (by 19 and 22%, respectively) than acetylsalicylic acid on the model of ADP-induced platelets aggregation (p 0.05). Compounds AZH-58 and AZH-60 exhibited moderate antioxidant effect (~24% at 1 μM concentration, $p < 0,05$). All the derivatives studied are inferior to tropisetron as serotonin 5-HT_3 receptor antagonists. Compounds AZH-56 and AZH-63 demonstrated DPP-4 inhibitory activity, which was comparable to that of sitagliptin. None of the compounds exhibited significant antiglycating, AT_1- and 5-HT_{2A} antagonistic activity, nor affected the blood viscosity.

Keywords: 1,3-dihydro-2H-benzimidazole-2-thione (2-mercaptobenzimidazole) derivatives; NHE-1 inhibitory activity; refractory period; antiaggregant activity; antioxidant activity; DPP-4 inhibitory activity; 5-HT_3, 5-HT_{2A}, AT_1 antagonists; antiglycating effect; blood coagulation.