

УДК 547.288.3 : 547.759.32

©Оковитый

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТРИАЗИНО- И ИМИДАЗОИНДОЛА С ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

С.В.Оковитый

Военно-медицинская академия, 194044 Санкт-Петербург, ул.Лебедева 6.

Исследовано действие 30 содержащих тиокарбамидный фрагмент производных индола, преимущественно конденсированных, на модели отравления (печени) крыс тетрахлорметаном и для части соединений на модели частичной гепатэктомии. В рядах индола, 1,2,4-триазино [5,6-*b*]- и [6,5-*b*]индола и имидазо[4,5-*b*]индола обнаружены соединения, снижающие активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, концентрацию общего билирубина в сыворотке крови и уменьшающие продолжительность гексеналового сна. По совокупности показателей определены коэффициенты гепатопротекторного действия; найдены соединения, превосходящие по этой величине препараты сравнения - рибоксин и оротат калия, а также эссенциале и при этом обладающие достаточным терапевтическим индексом. Для производных триазиноиндола обнаружена корреляция указанных интегральных величин с константами ионизации, а для отдельных показателей состояния печени - с константами ионизации и коэффициентами распределения в системе октанол-вода. Высокая активность наиболее вероятна при $pK_a \leq 8$. Для аминоктилтиопроизводных триазиноиндола защитное действие повышается при замещении атома водорода в положении 8 аминокгруппой, увеличении длины боковой цепи от 2 до 3 метиленовых звеньев и замещении в боковой цепи остатков ациклических алифатических аминов циклическими - пирролидином, *N*-метилпиперазином и морфолином, но не пиперидином, повышающим токсичность. Корреляция между гепатопротекторной и антигипоксической активностью отсутствует, тогда как для актопротекторов вероятность защиты печени повышена. Результаты свидетельствуют о перспективности поиска новых гепатопротекторных средств в указанных рядах производных индола.

Ключевые слова: производные триазиноиндола, производные имидазоиндола, гепатопротекторное действие

ВВЕДЕНИЕ. В настоящем исследовании осуществлен поиск веществ с гепатопротекторным действием в ряду производных 1,2,4-триазиноиндола, содержащих в молекуле фрагмент тиомочевины [1 - 3]. Выбор соединений именно этого класса был обусловлен тем, что, по имеющимся данным, некоторые из них обладают антиоксидантной активностью и мембраностабилизирующим действием [1]. Кроме того, для отдельных соединений этого ряда обнаружена способность угнетать систему митохондриального окисления печени [4], в связи с чем можно было предположить наличие у них гепатопротекторного действия, характерного для ингибитора митохондриального окисления дитиокарба и сходных с ним препаратов и обусловленного уменьшением образования токсичных метаболитов гепатотропных ядов [5]. Наряду с этим, мы учитывали, что одним из путей ускорения регенерации печени может стать иммуностимулирующее действие производных триазиноиндола [6], так как известно, что вещества с иммуномодулирующим

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

действием могут проявлять гепатопротекторное действие [7].

Для испытаний старшим научным сотрудником кафедры фармакологии ВмедА А.Б.Томчиным были получены производные 1,2,4-триазино[5,6-b]индола (Ia-г) и изомерного ему 1,2,4-триазино[6,5-b]индола (IIa-г). Кроме того, для сопоставления с ними были синтезированы некоторые другие конденсированные производные индола, тоже содержащие тиокарбамидный фрагмент: -имидазо[4,5-b]индол-2-тионы (IIIa-г) и их S-алкильные производные (IVa-г). Соединения (Iл,о) получены при участии Т.И.Жуковой и Т.А.Кузнецовой.

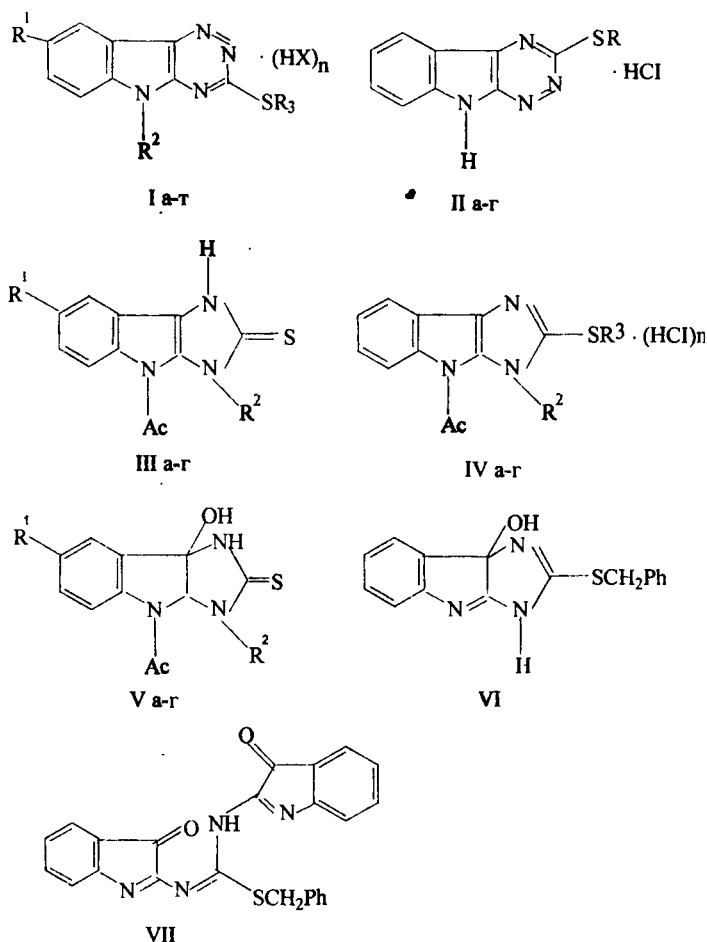
Наряду с получением 2-алкилтиоимидазо[4,5-b]индолов (IVa-г) из гидроксипроизводных (Va-г) было синтезировано соединение близкого строения (VI). Для сравнения с конденсированными производными индола (I-VI), содержащими тиокарбамидный фрагмент в соединенном с индольным ядром гетерокольце, в ряд соединений для биологических испытаний было включено производное индола (VII), содержащее указанный фрагмент в связанной с индольным ядром боковой цепи.

В качестве препаратов сравнения использовали эссенциале [8] и/или комбинацию калия оротата и рибоксина [9]. Основные сведения об изучаемых препаратах отражены на рисунке 1.

МЕТОДИКА. Эксперименты проводили на беспородных белых крысах-самцах массой 130-200 г на модели поражения печени тетрахлорметаном (животным подкожно вводили 50% раствор тетрахлорметана в вазелиновом масле в дозе 0,4 мл/100 г массы в течение 4 сут ежедневно) [10]. Параллельно с этим опытным группам животных ежедневно в течение 4 сут внутрибрюшинно вводили исследуемые соединения в виде раствора в физиологическом растворе или тонкой суспензии с добавлением твина-80 в объеме 1 мл на животное, а контрольным - физиологический раствор. В каждую группу животных включали по 8-10 крыс. Дозу препаратов, дающую максимальный гепатопротективный эффект, определяли в серии предварительных экспериментов. В качестве препаратов сравнения использовали комбинацию рибоксина и оротата калия в дозах по 50 мг/кг [11] и/или эссенциале в дозе 80 мг/кг [12]. Поскольку наибольшие морфологические и функциональные изменения наблюдаются на седьмой день от начала введения тетрахлорметана [13], то именно на седьмой день забирался материал для проведения биохимических исследований.

Мы исследовали также влияние некоторых из синтезированных соединений - представителей разных групп гетероциклов- на процессы регенерации печени на модели частичной гепатэктомии, обеспечивающей максимальную стимуляцию пролиферации гепатоцитов[14]. Животным под эфирным наркозом удаляли левую боковую и центральную долю печени, что составляло 2/3 органа. После операции животных делили на равные опытные и контрольные группы по 8-10 крыс в каждой. Контрольной группе вводили внутрибрюшинно физиологический раствор, а опытной группе - одно из исследуемых соединений или препараты сравнения. Исследуемые соединения и препараты сравнения вводили в день операции и в последующем в течение 4 дней, так как наибольшая активность процессов синтеза белка и нуклеиновых кислот наблюдается до четвертого дня после операции [15]. Крыс забивали на 7-й день, т.к. к этому времени регенерация печени практически завершается [16].

При изучении соединения Iо на модели экспериментального хронического гепатита [17] опыты проводили на белых крысах-самцах массой 180-200 г. В опытной и контрольной группе использовали по 8 животных. Животным на протяжении 30 дней 3 раза в неделю вводили внутривенно 0,2 мл/кг тетрахлорметана в 50% масляном растворе. Опытным животным вводили ежедневно внутрибрюшинно соединение Iо в дозе 50 мг/кг. Исходный раствор Iо (10 мг/мл) предварительно доводили до pH-3,5 добавлением 0,1М NaOH в присутствии твина-80.



Обозначения:

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: $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = (CH_2)_3NMe_2$, $X = OOC-CH(OH)-CH_2COOH$, $n = 1$; 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: $R^1 = R^2 = H$, $R^3 =$ 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, $R^3 = Pr$, $X = Cl$, $n = 1$; т: $R^1 = H$, $R^2 = CH_2CONH_2$, $R^3 = 2$ -морфолиноэтил, $X = Cl$, $n = 2$ (т);
 IIa: $R = (CH_2)_2NMe_2$; б: $R = (CH_2)_2NEt_2$; в: $R = (CH_2)_2NPr_2$; г: $R = 2$ -морфолиноэтил;
 IIIa, Va: $R^1 = R^2 = H$; IIIб, Vб: $R^1 = Br$, $R^2 = H$; IIIв, Vв: $R^1 = H$, $R^2 = Me$; IIIг, Vг: $R^1 = H$, $R^2 = CH_2Ph$;
 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: $R^2 = CH_2Ph$, $R^3 = (CH_2)_2NEt_2$, $n = 1$.

Рисунок 1.

Строение синтезированных триазино- и имидазоиндолов.

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

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 проводили стандартную пробу продолжительности гексеналового сна. Гексенал вводили внутривенно в дозе 80 мг/кг [18]. После пробуждения животных забивали декапитацией, кровь забиралась для проведения биохимических исследований. В сыворотке крови на автоматических биохимических анализаторах "SMA=12/16" ("Technicon instruments corporation", США) и "Abbot-spectrum" ("Abbot Laboratories s.a.", США) определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) (отражающих выраженность цитолитического синдрома [13]), концентрацию общего билирубина (как показателя пигментного обмена в печени [11]), содержание общего белка, азота мочевины, креатинина, глюкозы и калия. Результаты опытов статистически обработаны методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ "Statgraphics", 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 активность АлАТ, АсАТ и концентрацию билирубина, а также на продолжительность гексеналового сна характеризовали коэффициентами $K_{\text{АлАТ}}$, $K_{\text{АсАТ}}$, $K_{\text{бил}}$ и $K_{\text{гекс}}$. Необходимо было выяснить, 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 IIв) вычислена аппроксимационная модель: $K_{\text{АлАТ}} = 2,03K_{\text{АсАТ}} - 1,36K_{\text{АсАТ}}^2 + 0,322K_{\text{АсАТ}}^3$ ($F = 454,2$; $p \leq 0,0001$, $r = 0,98$). 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 таблиц 1 и 2, 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 был вычислен как среднеарифметическая величина трех показателей: $KЗ = (K_{\text{АлАТ}} + K_{\text{АсАТ}} + K_{\text{гекс}})/3$. Найденные величины КЗ приведены в таблицах 1 и 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Как видно из таблицы 1, 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 вещества, обладающие высокой гепатопротекторной активностью.

Так, на модели острого тетрахлорметанового гепатита активность 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), IIв (в 2,02 раза), IIIa (в 2,16 раза), Va (в 1,18 раза), и VII (в 2,3 раза).

Активность 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 VII (в 1,27 раза). Соединения Iz, и, IIв 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), IIв (в 1,53 раза), Va (в 2 раза), в то время как соединения Ig, ж, з, и, о, VII не оказывают заметного влияния на этот показатель. Соединения Ic и IIIa повышают

Окоцитый

уровень билирубина в 2,5 и 2 раза соответственно.

Продолжительность гексеналового сна сокращают соединения Iг (в 1,9 раза), Iж (в 1,64 раза), Iз (в 1,28 раза), Iи (в 1,7 раза), Iи (в 1,98 раза), Iо (в 1,52 раза), IIIа (в 1,61 раза) и VII (в 1,82 раза). Соединения Ic и IIв не изменяют этот параметр, а соединение IV а даже увеличивает продолжительность гексеналового сна в 1,23 раза.

На модели частичной гепатэктомии из 9 исследованных производных индола выявлены 2 соединения, обладающие достаточно выраженной гепатопротекторной активностью (табл. 2.). Вещества Iо и Iг снижают активность в плазме крови АлАТ в 1,23 и 1,7 раза, уровень общего билирубина в 1,66 и 1,2 раза соответственно по сравнению с контролем. На активность АсАТ и длительность гексеналового сна заметного влияния они не оказывают.

На модели экспериментального хронического поражения печени

Таблица 1. Влияние производных индола на функционально-метаболические показатели состояния печени в условиях ее острого поражения тетрахлорметаном

Соединение	Доза, мг/кг внутрибрюшинно	Аланинаминотранс- фераза, ммоль/с л	Аспартатамино- трансфераза, ммоль/ с л
Интактные животные	-	59,7 ± 3,35	30,2 ± 5,20
Контроль	-	137,8 ± 8,76 ^{xx}	83,2 ± 6,25 ^{xx}
Рибоксин + оротат калия	100	99,2 ± 6,30 ^x	60,1 ± 7,15 ^x
Эссенциале	80	92,5 ± 10,2	75,0 ± 6,30
Iа	42	263,3 ± 18,92 ^x	108,1 ± 11,01
Iб	46	286,8 ± 17,08 ^x	105,6 ± 11,23
Iв	50	95,7 ± 9,93	96,7 ± 13,15
Iг	50	106,0 ± 6,74 ^x	66,0 ± 6,16
Iд	20	82,5 ± 10,2	79,2 ± 7,41
Iе	59	104,4 ± 6,64 ^x	57,8 ± 3,69 ^x
Iж	50	67,9 ± 4,30 ^x	65,0 ± 6,05
Iз	50	83,0 ± 5,28 ^x	88,2 ± 4,91
Iи	50	94,4 ± 6,00 ^x	85,7 ± 8,54
Iк	50	101,3 ± 16,7	108,0 ± 14,1
Лл	50	128,8 ± 12,1	99,8 ± 7,64
Iм	6	398,3 ± 26,1 ^x	158,0 ± 7,51 ^x
Iн	40	104,4 ± 4,02	48,9 ± 4,5
Iо	50	68,9 ± 4,63	64,5 ± 3,21
Iп	50	125,3 ± 8,62	81,6 ± 6,99
Iр	50	139,2 ± 8,94	84,8 ± 3,07
Iс	50	47,69 ± 6,03 ^x	106,1 ± 9,2
IIа	42	269,1 ± 17,5 ^x	121,8 ± 10,15
IIб	46	271,5 ± 14,4 ^x	120,6 ± 10,16 ^x
IIв	50	68,2 ± 4,35	84,0 ± 5,45
IIг	48	264,6 ± 16,81 ^x	122,3 ± 17,36 ^x
IIIа	50	63,8 ± 6,06	60,3 ± 8,16 ^x
IIIб	20	123,1 ± 7,79	78,5 ± 8,11
IVб	25	165,4 ± 10,51 ^x	67,6 ± 9,21
IVв	25	140,6 ± 8,93	76,3 ± 5,23
IVг	25	147,5 ± 12,22	77,7 ± 8,04
Vа	50	115,8 ± 10,36	94,0 ± 4,63
VII	50	59,9 ± 3,35	65,5 ± 9,36

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

Таблица 1 (продолжение)

Соединение	Общий билирубин, мкмоль/л	Продолжительность гексеналового сна, мин	KЗ ₁
Интактные животные	3,40 ± 0,27	17,5 ± 1,9	-
Контроль	6,84 ± 0,13 ^{xx}	50,0 ± 5,2 ^{xx}	-
Рибоксин + оротат калия	6,32 ± 0,31	38,5 ± 3,7 ^x	1,28
Эссенциале	5,16 ± 0,20	33,6 ± 2,67	1,43
Ia	4,52 ± 0,26 ^x	46,3 ± 4,1	1,04
Iб	4,56 ± 0,18 ^x	53,5 ± 4,7	0,98
Iв	12,91 ± 2,7	43,9 ± 1,3	1,05
Iг	6,80 ± 0,40	26,3 ± 2,8 ^x	1,40
Id	6,84 ± 0,37	55,0 ± 5,0	1,19
Ie	6,88 ± 0,42	42,7 ± 5,5	1,16
Iж	6,64 ± 0,29	30,5 ± 2,6 ^x	1,57
Iз	6,84 ± 0,38	39,0 ± 3,4 ^x	1,31
Iи	6,82 ± 0,38	29,4 ± 3,2 ^x	1,39
Iк	10,70 ± 0,98	37,6 ± 4,1	1,11
Лл	4,52 ± 0,18 ^x	52,5 ± 3,8	1,18
Im	6,80 ± 0,36	64,0 ± 5,8	0,77
Ин	3,66 ± 0,15	26,6 ± 2,4	1,69
Io	6,85 ± 0,34	32,9 ± 2,8 ^x	1,51
Ip	8,55 ± 1,75	36,8 ± 6,8	1,09
Ip	6,79 ± 0,27	53,0 ± 5,4	0,98
Ic	17,1 ± 2,12 ^x	50,0 ± 3,6	1,43
IIa	4,56 ± 0,22 ^x	51,5 ± 3,3	0,99
IIб	4,58 ± 0,22 ^x	51,0 ± 4,9	0,99
IIв	4,48 ± 0,16 ^x	42,4 ± 5,4	1,58
IIг	4,60 ± 0,17 ^x	41,6 ± 3,6	1,07
IIIa	13,7 ± 0,98 ^x	31,0 ± 3,0 ^x	1,42
IIIб	4,66 ± 0,18 ^x	70,0 ± 7,2	1,10
IVб	3,24 ± 0,07 ^x	39,8 ± 4,1	1,40
IVв	6,80 ± 0,27	42,4 ± 4,4	1,05
IVг	4,36 ± 0,11 ^x	71,4 ± 6,8 ^x	1,07
Va	3,42 ± 0,16 ^x	61,5 ± 5,2	1,33
VII	6,78 ± 0,34	27,5 ± 4,3 ^x	1,37

Примечание. Здесь и в табл. 2 : ^x - Отличие статистически достоверно по сравнению с показателем контрольной группы животных (p ≤ 0,05). ^{xx} - Отличие статистически достоверно по сравнению с показателем интактной группы животных (p ≤ 0,05).

тетрахлорметаном у крыс одно из наиболее активных соединений - Io достоверно снижает активность АЛАТ (с 286,3±6,8 до 195,0 ± 9,9 ммоль/с.л) и щелочной фосфатазы (с 444,4 ± 20,6 до 183,7 ± 14,3 мкмоль/л), уровень общего билирубина (с 5,13 ± 0,2 до 3,42 ± 0,11 мкмоль/л), а также увеличивает выживаемость животных на 20%. Величина КЗ составляет на этой модели 1,31. Таким образом, гепатопротекторная активность соединения Io подтверждена и на модели экспериментального хронического поражения печени.

На модели острого тетрахлорметанового поражения печени для производных триазиноиндола (за исключением Iг, и, н, с) обнаруживается зависимость между влиянием соединений на активность АЛАТ и продолжительностью гексеналового сна: $K_{гекс} = 3,33 K_{АЛАТ} - 2,99 K_{АЛАТ}^2 + 0,84 K_{АЛАТ}^3$ (F = 247,5; p ≤ 0,0001, r = 0,978). Все

Оковитый

Таблица 2. Влияние производных индола на функционально-метаболические показатели состояния печени после частичной гепатэктомии

Соединение	Доза, мг/кг внутрибрюшинно	Аланинаминотранс- фераза, ммоль/с л	Аспаратаминотранс- фераза, ммоль/с л
Интактные животные	-	45,3 ± 1,70	54,0 ± 3,20
Контроль	-	96,5 ± 28,0 ^{xx}	74,9 ± 12,2 ^{xx}
Рибоксин + оротаг калия	100	65,0 ± 1,0 ^x	56,0 ± 0,9 ^x
Ив	50	66,8 ± 14,52	86,9 ± 1,92
Ид	20	67,5 ± 9,58	79,4 ± 1,22
Ик	50	70,7 ± 2,58	97,9 ± 2,53 ^x
Ин	40	73,2 ± 7,67	69,3 ± 1,67
Ио	50	78,4 ± 2,17	64,6 ± 6,5
Ип	50	87,6 ± 2,90	73,4 ± 2,53
Ит	12,5	56,7 ± 6,67 ^x	71,3 ± 6,43
IIIa	50	88,5 ± 4,22	66,9 ± 5,76
IVa	50	70,4 ± 2,44	72,7 ± 11,88

Таблица 2 (продолжение)

Соединение	Общий билирубин, мкмоль/л	Продолжительность гексеналового сна, мин	KЗ ₁
Интактные животные	2,05 ± 0,09	22,3 ± 1,0	-
Контроль	2,74 ± 0,02 ^{xx}	62,0 ± 8,0 ^{xx}	-
Рибоксин + оротаг калия	2,58 ± 0,12	50,2 ± 6,5	1,26
Ив	5,13 ± 0,17 ^x	59,0 ± 3,43	1,01
Ид	2,70 ± 0,08	50,4 ± 2,59	1,22
Ик	4,28 ± 0,85 ^x	46,5 ± 10,5	1,11
Ин	5,13 ± 0,68 ^x	33,0 ± 2,01 ^x	1,24
Ио	1,65 ± 0,03 ^x	63,5 ± 1,89 ^x	1,29
Ип	3,42 ± 0,86	45,5 ± 7,49	1,09
Ит	2,28 ± 0,16 ^x	56,4 ± 6,02	1,33
IIIa	3,34 ± 0,04 ^x	75,6 ± 8,36	0,91
IVa	2,70 ± 0,21	44,3 ± 5,56 ^x	1,26

коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0001$. Однако, эта 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): $KZ_2 = 1,807 KZ_1^2 - 0,811 KZ_1^3$ ($F = 4625$). Соответствующие корреляции найдены и для влияния указанных соединений на отдельные функционально-метаболические показатели состояния печени, причем две последние зависимости являются линейными: $K_{\text{АЛАТ}}(2) = 1,695 K_{\text{АЛАТ}}(1)^2 - 0,706 K_{\text{АЛАТ}}(1)^3$ (за исключением V, $F = 9545$); $K_{\text{БИЛ}}(2) = 1,003 K_{\text{БИЛ}}(1)$ (за исключением Ин, $F = 192183$); $K_{\text{ГЕКС}}(2) = 0,986 K_{\text{ГЕКС}}(1)$ (за исключением Ид, $F = 5565$). Для всех 4 приведенных выше корреляций $p \leq 0,00001$, $r \geq 0,999$ все коэффициенты для зависимости с величинами $K_{\text{АЛАТ}}$ статистически значимы при $p \leq 0,0001$, для остальных корреляций $p \leq 0,00001$.

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

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 терминальной диметиламиногруппой и диэтиламиногруппой неактивны, тогда как при переходе к дипропиламиногруппе активность увеличивается. Высокой активностью обладают соединения, содержащие в боковой цепи остаток циклических алифатических аминов, - производные 2-пирролидона, 1-метилпиперазина и морфолина. Напротив, наличие в боковой цепи указанных соединений остатка пиперидина, равно как и замена в боковой цепи одного из двух метиленовых звеньев, связанного с аминогруппой, карбонилom вызывает снижение активности. Введение третьего метиленового звена приводит к получению более активных соединений.

Замещение в положении 8 бензольного кольца производных триазиноиндола атома водорода бромом или метоксигруппой не оказывает значительного влияния на активность, тогда как введение аминогруппы приводит к получению соединений Ie-3, 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 карбамидометильной или морфолиноэтильной группой гепатопротекторная активность сохраняется или увеличивается. При сопоставлении производных 1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола и 1,2,4-триазино[6,5-*b*]индола активность мало зависит от места конденсации индольного и триазинового ядер, за исключением дипропиламиноэтилтиопроизводных (в этом случае соединение второго ряда более активно).

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 он 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 проявляют как незамещенные 2-тионы, так и их *S*-метильные производные, причем последние превосходят по активности 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 VII, 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 [2, 3]. 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: $KZ_1 = 0,0853 pK_a^2 - 0,00833 pK_a^3$ ($F=193,8$; $p \leq 0,0001$, $r=0,98$). 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, хотя не исключает 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 In, o и Iv.

Корреляция между интегральной гепатопротекторной активностью и липофильностью отсутствует. Область липофильности, в которой найдены

активные соединения, достаточно широка, то есть величины $\lg P_{\text{каж}}$ составляют от 2,1 до 4,3. 8-Аминопроизводные и в этом 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 VII и на модели гепатэктомии - соединения Ig (уменьшают активность АлАТ в 1,6-2,9 раза). Для 1,2,4-триазино[5,6-b]индолов (за исключением соединений Ik, м, с и 8-аминопроизводных) найдена зависимость между липофильностью и влиянием на активность 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 процессов пигментного обмена в печени на первой модели в наибольшей степени обеспечивают соединения Ia, б, л, н, II а-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-диэтил-аминоэтилтиопроизводные обоих изомерных рядов триазиноиндола. Производные 1,2,4-триазино[6,5-b]индола II в, г превосходят соединения изомерного ряда. Подобно величинам КЗ, для величин $K_{\text{бил}}$ обоих указанных рядов, за исключением 8-аминопроизводных и соединений Ig, м и Iv, установлена колоколообразная зависимость от липофильности: $K_{\text{бил(1)}} = 1,08 \lg P_{\text{каж}} - 0,0919 \lg P_{\text{каж}}^2$ ($F = 101,7$, $p \leq 0,0001$, $r = 0,94$). Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,00001$. 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 $\lg P$ [8]. Это свидетельствует о существенном вкладе ионизации. Действительно, для растворимых соединений ряда 1,2,4-триазино[5,6-b]индола, за исключением 8-аминопроизводных и соединения Iv, влияние на уровень билирубина коррелируется и непосредственно с константами ионизации: $K_{\text{бил(1)}} = 0,0133 \text{pK}_a^3 - 0,00132 \text{pK}_a^4$ ($F = 54,6$; $p \leq 0,0001$, $r = 0,93$). Все коэффициенты статистически значимы при $p \leq 0,0016$. Оптимальная величина pK_a растворимых соединений для снижения уровня билирубина равна $7,5 \pm 0,3$.

Активность системы микросомального окисления печени в наибольшей степени улучшают на модели трихлорметанового гепатита соединения Ig, ж, и, н, о, IIIa, VII и на модели частичной гепатэктомии соединения In, уменьшающие продолжительность гексеналового сна в 1,5-1,9 раза. Для растворимых соединений ряда 1,2,4-триазино[5,6-b]индола (за исключением 8-аминопроизводных) установлена зависимость между этим показателем и основностью: $K_{\text{текс(1)}} = 0,351 \text{pK}_a - 0,0262 \text{pK}_a^2$ ($F = 156,9$, $p \leq 0,0001$, $r = 0,96$). 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 [19, 2, 3], отсутствует. Как уже было отмечено выше, для некоторых соединений была известна способность ингибировать микросомальное окисление в ранние сроки после введения [4]. 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

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

метаболизировать ксенобиотики. Качественно выявляется также связь с актопротекторным действием. Так, высокую защитную активность по отношению к печени проявляют производные триазиноиндола и имидазоиндола Id, n, и, т и IVa, способные повышать и восстанавливать физическую выносливость после истощающих нагрузок или экстремальных воздействий [20]. 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-b]индола, 1,2,4-триазино[6,5-b]индола и имидазо[4,5-b]индола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Томчин А.Б., Кропотов А.В. (1998) Хим.-фарм. журн., **32** (1), 22-26.
2. Томчин А.Б., Урюпов О.Ю., Жукова Т.И. и др. (1997) Хим.-фарм. журн., **31** (3), 19-27.
3. Томчин А.Б., Урюпов О.Ю., Смирнов А.В. (1997) Хим.-фарм. журн., **31** (12), 6-11.
4. Плужников Н.Н., Урюпов О.Ю., Томчин А.Б. и др. (1993) Вестник Лен. гос. ун-та. - Сер.3., **2**(10). - 50-55.
5. Венгеровский А.И., Саратиков А.С. (1988) Фармакол. и токсикол., N 1, 89-93.
6. Январева И.Н., Урюпов О.Ю., Александров В.Н., Томчин А.Б. и др. (1990) Вестник Лен. гос. ун-та. - Сер.3, **2**(10), 59-64.
7. Оковитый С.В. (1995) Протеинсинтетические и иммунные механизмы защитно-репаративных эффектов гепатотропных средств. - Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - СПб. - 24 с.
8. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Паульс О.В. (1987) Бюлл. эксп. биол. и мед., N 4, 430-432.
9. Рычнев В.Е., Фролов В.М. Стимуляторы регенерации в терапии вирусного гепатита и других заболеваний печени. (1984) Изд-во Воронеж. гос. ун-та
10. Лазарев Н.В. (ред.) (1954) Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований Л.: Медгиз. - 392 с.
11. Подымова С.Д. (1993) Болезни печени. Руководство для врачей. - М.: Медицина.
12. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Паульс О.В. (1987) Бюлл. эксп. биол. и мед., N 8, 192-195.
13. Slater T.F. (1978). In Biochemical Mechanisms of Liver Injury. London, New York, San Francisco: Acad. Press. pp. 1-45.
14. Higgins G.M., Anderson R.M. (1931) Arch. Pathol., **12**(1), 188-202.
15. Солопаев Б.П. (1980) Регенерация нормальной и патологически измененной печени. Горький: Волг.-Вят. кн. изд..
16. Сидорова В.Ф., Рябинина З.А., Лейкина Е.М. (1966) Регенерация печени у млекопитающих, Л.: Медицина.
17. Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Батурина Н.О. и др. (1995) Экспер. и клин. фармакол., **59**(1), 29-26.
18. Verly W.C. (1976) The control of liver growth. - New York.: Chalones.
19. Авт. свид. 940476, 978567, 1014249 (1981), 1233460, 1231835, 1235181 (1984), 1487413, 1498021 (1987), 1547280, 1547281, 1596719 (1988), 1598431, 1665679, 1681504 (1989), 1804067 (1991) СССР/ Томчин А.Б., Виноградов В.М., Жукова Т.И. и др. - Бюл. изобр. - 1996. - N 25.
20. Авт. свид. 1014250, 1032758 (1981), 1139143 (1983) СССР/ Томчин А.Б., Виноградов В.М., Басиева Т.С. и др. - Бюл. изобр. - 1996. - N 26.

Поступила 11.01.2002

**NEW DERIVATIVES OF TRIAZINO- AND IMIDAZOINDOLE WITH
HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY**

S.V.Okovity

Military-Medical Academy, Lebedeva str. 6, St.-Petersbourg, 194044 Russia.

The effect of 30 indole derivatives (mainly condensed) containing a thio-carbamide fragment was investigated in rats using a model of carbontetrachloride-induced hepatitis and a model of partial hepatectomy (for some compounds). Among indoles, 1,2,4-triazino[5,6-b]- and [6,5-b]indole as well as imidazo[4, 5-b]indole series the compounds, decreasing concentration of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and total bilirubin in blood serum and reducing hexenal sleep duration were found. The compounds exceeding in this respect riboxine, potassium orotate and essentielle (used for comparison) and possessing sufficient therapeutic index were found. The correlation between biological activity and ionisation constants was observed for triazinoindole derivatives, while for some indices of liver state the correlation with ionisation constants and distribution coefficients in octanol/water system was found as well. High activity was most probable at $pK_a \leq 8$. For aminoalkyl thioderivatives of triazinoindole the protective effect increased on substituting the aminogroup for hydrogen atom at 8-position, on increasing the side chain length from 2 to 3 methylene links and on replacing of acyclic aliphatic amines residues in a side chain by cyclic amines - pyrrolidine, N-methylpiperazine and morpholine rather than piperidine which increased toxicity. There was no correlation between hepatoprotective and antihypoxic activity while for actoprotectors the probability of liver protection was increased. The results indicate perspectives in searching new hepatoprotective agents among the indicated series of indole derivatives.

Key words: derivatives triazinindole, derivatives imidazoindole, hepatoprotective action