

© Коллектив авторов, 2013

К. Ф. Суздаев¹, А. А. Спасов², Д. С. Яковлев², В. А. Косолапов²,
А. Ф. Кучерявенко², Н. А. Гурова², Л. В. Науменко², В. А. Кузнецова²,
О. Ю. Гречко², Н. А. Колобродова³, Т. М. Митина², Д. В. Мальцев²,
М. Н. Бабакова¹, С. В. Денькина¹

СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АМИНОСПИРТОВ РЯДА ИНДОЛА

¹ НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, Россия;

² Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия;

³ Волгоградский научный медицинский центр, Волгоград, Россия

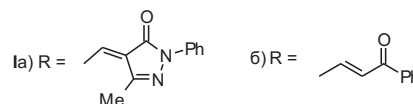
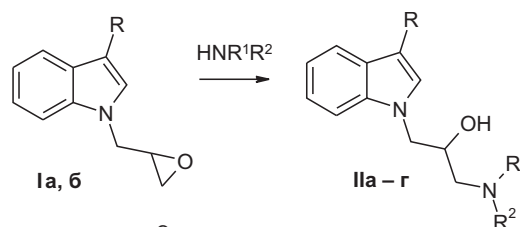
Раскрытие оксиранового цикла в 1-оксиранилметилиндолах приводит к новым производным индола, содержащим остаток 1,2-аминоспирта при атоме азота. Соединения изучены *in vitro* на различные виды фармакологической активности, характерные для данного класса соединений, включая рецепторные (5-HT₂-, 5-HT₃-, P2Y₁-ергическую, κ-опиоидную), антиагрегантную, гемореологическую антиаритмическую и антиоксидантную.

Ключевые слова: индол; 1-оксиранилметилиндолы; 1,2-аминоспирты индольного ряда; гемореологическая активность; антиагрегант; антиоксидант; антиаритмик; 5-HT₂-антагонист; 5-HT₃-антагонист; κ-опиоидная активность; P2Y₁-антагонист; кетансерин; ондансетрон; базиленовый синий; U50,488; хинидин; кислота ацетилсалициловая; пентоксифиллин; дибунол.

В последние годы наблюдается повышенный интерес к индолам, содержащим остаток 1,2-аминоспирта в положении 1. Подобные производные 2-метилиндола проявляют противовоспалительную и анальгетическую активность [1]. Аминоспирты ряда 5-метоксииндола обладают цитотоксическим действием, что может быть использовано при лечении онкологических заболеваний [2]. В ходе исследований индолокразольных аналогов природных алкалоидов страуреспорина и ребеккамицина были получены аминоспирты, обладающие противоопухолевой активностью и являющиеся ингибиторами репликации цитомегаловируса человека [3]. При изучении нового класса непептидных ингибиторов протеазы ВИЧ-1 были синтезированы 1,2-аминоспирты, содержащие в своей структуре остатки антралиновой кислоты и индола [4]. Ранее нами показано, что 1,2-аминоспирты ряда 3-(2-карбонилвинил)индола проявляют антиаритмическую и местноанестезирующую активность, более высокую, чем у известных, широко применяемых препаратов — новокаина, лидокаина и маркаина [5].

В связи с изложенным нами предпринят синтез новых производных ряда индола, содержащих остаток 1,2-аминоспирта в положении 1, по разработанному нами ранее методу [6]. 1-Оксиранилметилиндолы Ia, б вводились в реакцию с аминами с образованием 1,2-аминоспиртов Па–г (табл. 1). Строение соединений Па–г подтверждается спектральными данными. В ИК-спектрах в коротковолновой области имеется пик, характерный для гидроксильной группы в области 3380–3430 см⁻¹. В спектрах ЯМР ¹H присутствуют

пики метиленовых протонов, а также сигналы, соответствующие заместителям R — R² (табл. 2). Соединения Па–г были испытаны на биологическую активность в виде растворимых в воде гидрохлоридов.



Ia – г: R – R² см. табл. 1.

Экспериментальная химическая часть

Ход реакции при синтезе соединений Па–г и их индивидуальность контролировали методом ТСХ на пластинах Silufol UV-254. Спектры ЯМР ¹H сняты на спектрометре Bruker DPX-250. ИК-спектры — на приборе Varian 3100 FT-IR, Excalibur Series с помощью метода нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) с использованием кристалла селенида цинка. Данные элементного анализа (С, Н, N) синтезированных соединений соответствуют теоретически рассчитанным значениям в пределах обычных отклонений. Исходные 1-оксиранилметилиндолы Ia, б получены по методике [6]. Характеристики и выходы синтезированных соединений приведены в табл. 1, 2.

Заместители, температуры плавления соединений Па – г и их гидрохлоридов

Соединение	NR ¹ R ²	R	Брутто формула	Т. пл., °С	Т. пл. гидрохлорида, °С
Па			C ₃₀ H ₃₈ N ₄ O ₂	127 – 128	168 – 170
Пб			C ₂₆ H ₃₂ N ₂ O ₂	84 – 86	190 – 192
Пв			C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₂	107 – 109	184 – 186
Пг			C ₂₅ H ₃₀ N ₂ O ₂	76 – 77	130 – 132

3-(Дибутиламино)-1-{3-[3-метил-1-фенил-5(4H)-оксопиразол-4-ил]метилен}-1H-индол-1-ил}пропан-2-ол (Па). 300 мг (0,8 ммоль) 3-[3-метил-1-фенил-5(4H)-оксопиразол-4-ил]метилен]-1-[(оксиран-2-ил)метил]-1H-индол (Ia) кипятят в 3 мл толуола с 0,52 г (1,7 ммоль) дибутиламина в течение 4 ч. Затем растворитель отгоняют в вакууме на водяной бане, к остатку добавляют 2 мл изопропилового спирта, подогревают до растворения и инициируют кристаллизацию трением.

(2E)-3-{1-[2-Гидрокси-3-(дипропиламино)пропил]-1H-индол-3-ил}-1-фенил-2-пропен-1-он (Пб). 1,21 г (4 ммоль) 3-[1-(2-оксиранилметил)-1H-индол-3-ил]-1-фенил-2-пропен-1-она (Iб) и 1,1 мл (8 ммоль) дипропиламина кипятят в 10 мл толуола в течение 8 ч. Затем в горячий раствор добавляют петролейный эфир (т. кип. 40 – 70 °С) до лёгкого помутнения и инициируют кристаллизацию трением. По мере выпадения осадка добавляют петролейный эфир (50 мл) и оставляют смесь на ночь для завершения кристаллизации.

(2E)-3-[1-(3-Азепан-1-ил-2-гидроксипропил)-1H-индол-3-ил]-1-фенилпроп-2-ен-1-он (Пв). Получен аналогично аминспирту Пб из 1,21 г (4 ммоль) оксиранилметилиндола Iб и 0,9 мл (8 ммоль) гексаметиленмина.

(2E)-3-(1-{3-[Бутил(метил)амино]-2-гидроксипропил]-1H-индол-3-ил}-1-фенилпроп-2-ен-1-он (Пг). Получен аналогично аминспирту Пб из 1,21 г (4 ммоль) оксиранилметилиндола Iб и 0,95 мл (8 ммоль) бутилметиламина.

Гидрохлориды соединений Па – г. 3 ммоль соединения Па – г растворяют в 10 мл безводного ацетона и добавляют по каплям насыщенный раствор хлористого водорода в изопропиловом спирте до кислой реакции по универсальной индикаторной бумаге. Если осадок не выпадает, добавляют 5 мл абсолютного эфира и вызывают кристаллизацию трением. Гидрохлорид отфильтровывают и промывают эфиром. Выходы составляют 85 – 95 %. Т. пл. гидрохлоридов приведены в табл. 1.

Экспериментальная фармакологическая часть

Исследование антагонистической активности синтезированных соединений по отношению к серотониновым 5-HT₂-рецепторам, пуриновым P2Y₁-рецепторам, а также агонистической активности по отношению к(каппа)-опиоидным рецепторам проводили на модели активации тромбоцитов *in vitro* методом мало-

Таблица 2

Выходы и спектры ИК и ЯМР ¹H соединений Па – г

Соединение	ИК-спектр, ν _{OH} , см ⁻¹	Выход, %	Спектр ЯМР ¹ H, δ, м.д., растворитель CDCl ₃
Па	3430	66	0,90 (т, 6H, 2CH ₃), 1,10 – 1,50 (м, 8H, 4CH ₂), 2,25 – 2,60 (м, 6H, 3CH ₂), 2,40 (с, 3H, CH ₃), 3,90 – 4,10 (м, 2H, CHOH), 4,28 (д, 2H, CH ₂), 7,10 – 8,07 (м, 10H, ArH), 9,92 (с, 1H, –CH=).
Пб	3385 3410	77	0,87 [т, 6H, N(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂], 1,30 – 1,57 [м, 4H, N(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂], 2,27 – 2,53 [м, 6H, N(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂ , NCH ₂ CHOH], 3,95 – 4,07 (м, 1H, CHOH), 4,08 – 4,28 (м, 2H, N _{инд.} CH ₂), 7,26 – 8,18 (м, 12H, ArH, CH=CH).
Пв	3380	72	1,45 – 1,62 [м, 8H, (CH ₂) ₄], 2,42 – 2,80 [м, 6H, N(CH ₂) ₃], 3,90 – 4,02 (м, 1H, CHOH), 4,05 (ушир.с, 1H, OH), 4,08 – 4,30 (м, 2H, N _{инд.} CH ₂), 7,26 – 8,17 (м, 12H, ArH, CH=CH).
Пг	3390	75	0,95 (т, 3H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 1,18 – 1,26 (м, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃), 2,22 (с, 3H, NCH ₃), 2,27 – 2,54 (м, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃ , NCH ₂), 3,67 (ушир.с, 1H, OH), 3,95 – 4,46 (м, 1H, CHOH), 4,08 – 4,30 (м, 2H, N _{инд.} CH ₂), 7,16 – 8,16 (м, 12H, ArH, CH=CH).

Серотонинергическая, пуринергическая и каппа-опиоидная активность исследованных аминоспиртов индольного ряда Па – г

Соединение	5-НТ ₂ -антагонистическая активность (1 мкМ), Δ% (M ± m)	5-НТ ₃ -антагонистическая активность (1 мкМ), Δ% (M ± m)	P2Y ₁ -антагонистическая активность (1 мкМ), Δ% (M ± m)	Каппа-опиоидная активность (0,1 мМ), Δ% (M ± m)
Па	-35,6 ± 6,4* [#]	-6,8 ± 5,3 [#]	-33,8 ± 5,6*	...
Пб	-21,7 ± 4,7* [#]	-27,2 ± 6,1* [#]	-6,4 ± 4,9 [#]	0,4 ± 1,1 [#]
Пв	-10,5 ± 5,8 [#]	-15,6 ± 5,8* [#]	-17,4 ± 1,8*	2,0 ± 0,8 [#]
Пг	-28,6 ± 6,1* [#]	-22,2 ± 4,0* [#]	-20,2 ± 0,6*	0,1 ± 1,3 [#]
Кетансерин	-81,4 ± 1,5*
Ондансетрон	...	-80,1 ± 2,1*
Базиленовый синий	-20,8 ± 2,3*	...
U50,488	22,8 ± 1,6*

* $p < 0,05$, данные статистически значимы по отношению к контролю, [#] — $p < 0,05$, данные статистически значимы по отношению к препарату сравнения, ... — не исследовалось.

углового светорассеяния [7] в модификации [8]. Исследование проводили на тромбоцитах кролика с использованием солевой среды следующего состава: 140 мМ NaCl, 10 мМ трис-HCl (рН 7,4). Для изучения 5-НТ₂-антагонистического действия в качестве индуктора активации тромбоцитов использовали 5-гидрокситриптамин (Sigma, США) в концентрации 1 мкМ. Определение P2Y₁-антагонистической активности проводилось с добавлением в солевую среду 5 мМ ЭДТА (для исключения развития P2X-опосредованных эффектов) и использованием АДФ (Sigma, США) в качестве индуктора активации тромбоцитов в концентрации 70 нМ. При этом изучаемые соединения исследовались в концентрации 1 мкМ. Каппа-агонистическая активность оценивалась по степени активации тромбоцитов, индуцированной исследуемым веществом в концентрации 0,1 мМ; для подтверждения специфичности опиоидного характера действия соединений проводились тесты с антагонистом опиоидных рецепторов налтрексоном ФВ (ОАО “Московская фармацевтическая фабрика”, Россия). Используются вещества сравнения: 5-НТ₂-антагонист — кетансерин (Sigma, США), P2Y₁-антагонист — базиленовый си-

ний (Sigma, США), селективный агонист κ-опиоидных рецепторов U-50,488 (Sigma, США). Регистрацию малоуглового рассеяния проводили датчиком с угловыми координатами 12 градусов на приборе “ЛАСКА-1К” (Люмекс, Россия). О величине антагонистической/агонистической активности веществ судили по изменению степени светорассеяния, вызванного активацией тромбоцитов (в %) по отношению к контрольному значению.

Исследование антагонистической активности по отношению к серотониновым 5-НТ₃-рецепторам проводили по [9]. Действие веществ оценивали по их влиянию на степень выраженности серотонин-индуцированного спазмогенного эффекта изолированной подвздошной кишки морской свинки (буферный раствор Кребса, рН 7,4; t 37 °C). Спазмогенный эффект вызывали 5-гидрокситриптамином (Sigma, США) в концентрации 3 мкМ. Все вещества исследовались в эквимолярной концентрации 1 мкМ. В качестве препарата сравнения использовали ондансетрон (Ленс-Фарм, Россия). О степени 5-НТ₃-серотонинергической активности судили по изменению спазмогенного эффекта в контрольном и опытных измерениях.

Антиаритмическая, антиагрегантная, гемореологическая и антиоксидантная активность исследованных аминоспиртов индольного ряда Па – г

Соединение	Антиаритмическая активность МЭК, моль/л	Влияние на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов (0,1 мМ), Δ% (M ± m)	Изменение индекса агрегации эритроцитов (0,1 мМ), Δ% (M ± m)	Антиоксидантная активность (10 мкМ), % ингибирования (M ± m)
Па	$1,0 \cdot 10^{-3}$	-9,14 ± 6,84 [#]	-4,69 ± 1,8 [#]	56,08 ± 3,17* [#]
Пб	$2,4 \cdot 10^{-4}$	-51,8 ± 13,1* [#]	-2,0 ± 1,2 [#]	75,13 ± 2,71*
Пв	$2,0 \cdot 10^{-4}$	-63,2 ± 3,6* [#]	...	71,81 ± 2,51*
Пг	$1,5 \cdot 10^{-4}$	-92,14 ± 4,23* [#]	-3,99 ± 2,9 [#]	73,40 ± 3,24*
Этмозин	$5,1 \cdot 10^{-5}$
Хинидин	$3,4 \cdot 10^{-4}$
Кислота ацетилсалициловая	...	-32,8 ± 4,6*
Пентоксифиллин	-18,6 ± 2,5*	...
Дибунол	83,09 ± 3,36*

Примечания: МЭК — минимальная эффективная концентрация; * $p < 0,05$, данные статистически значимы по отношению к контролю; [#] $p < 0,05$, данные статистически значимы по отношению к препарату сравнения, ... — не исследовалось.

Влияние на агрегацию тромбоцитов кроликов определяли *in vitro* по [10]. Исследуемые вещества в концентрации 0,1 мМ инкубировали с плазмой обогащенной тромбоцитами в течение 5 мин. Агрегацию индуцировали АДФ (Reanal, Венгрия) в концентрации 5 мкМ. Исследование проводили на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов 230 LA (НПФ "Биола", Россия) Об активности веществ судили по снижению агрегации тромбоцитов по отношению к контролю (в %). В качестве препарата сравнения изучали кислоту ацетилсалициловую (Sigma, США).

О гемореологической активности судили по изменению вязкости крови кролика в условиях моделирования нарушений реологических свойств крови *in vitro* по [11], заключающегося в инкубировании крови при 42,5 °С в течение 60 мин. Производилась стандартизация образцов крови к единому гематокриту 45 у. е. Изучаемые вещества добавлялись к образцам крови в конечной концентрации 0,1 мМ. В качестве препарата сравнения использован пентоксифиллин (Aventis, Германия). Измерение вязкости крови проводили на вискозиметре АКР-2 (Россия). Влияние веществ на агрегацию эритроцитов оценивали по изменению индекса агрегации, рассчитываемому как отношение вязкости крови при скорости сдвига 3 с^{-1} к вязкости крови при 100 с^{-1} .

Об антиаритмических свойствах соединений судили по их влиянию на усвоение навязанного ритма [12]. Исследования проводили на изолированных предсердиях крыс, помещенных в питательный раствор Кребса при температуре 25 °С и оксигенации. Об активности судили по минимальной эффективной концентрации (МЭК) веществ, препятствующей навязанному ритму (3 Гц, длительность импульса 0,5 мс, напряжение тока, в 2 раза превышающее пороговую величину; электростимулятор ЭСЛ-2, Россия) в 15-секундном интервале времени. Активность веществ сравнивали с действием хинидина (Sigma, США) и этмозина (НИИ фармакологии им. Закусова РАМН, Россия).

Антиоксидантную активность веществ изучали в экспериментах *in vitro* на модели аскорбат-зависимого перекисного окисления липидов (ПОЛ) [13]. Соединения исследовали в концентрации 10 мкМ. В качестве субстрата использовали 4 % гомогенат печени крыс. Реакцию инициировали 50 мМ аскорбиновой кислоты (Сетарол, Чехия). О скорости окисления судили по накоплению малонового диальдегида в реакции с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую плотность окрашенного продукта измеряли при длине волны 532 нм на спектрофотометре PD-303 UV (Arel, Япония) в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Активность веществ оценивали в % по отношению к пробе без соединения. В качестве препарата сравнения использовали дибунол (Merck, Германия).

Данные обрабатывались статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента, метода регрессионного анализа.

Результаты и их обсуждение

Изучение рецепторной активности соединений показало наличие у веществ Па, в, г выраженного антипуринергического действия (табл. 3). При этом наибольший P2Y₁-антагонистический эффект демонстрирует аминоспирт Па, превосходя вещество сравнения базиленовый синий, в то время как соединения Пб и Пг по уровню антипуринергической активности сопоставимы с последним.

Также выявлено, что для некоторых соединений характерна антисеротониновая, но не каппа-опиоидная активность. Так соединения Па и Пг демонстрируют умеренное 5-НТ₂-антагонистическое действие, а соединение Пб способно уменьшать 5-НТ₃-опосредованные реакции. При этом стоит отметить, что указанные эффекты значительно уступают препаратам сравнения кетансерину и ондансетрону.

Из изученных соединений Пб – г 3 соединения несколько превосходят или сопоставимы с эффектами хинидина, но уступают по величине антиаритмического действия этмозину. Антиаритмический эффект существенно снижается при введении в качестве R-заместителя в Па (3-метил-1-фенил-5(4H)-оксопиразол-4-ил)метилена.

В результате исследования выявлено, что изученные аминоспирты индольного ряда Пб – г демонстрируют выраженное антиоксидантное действие, несколько уступая дибунолу. При этом наибольший вклад в развитие антиоксидантной активности вносит заместитель фенил-2-пропенон, замена которого на (3-метил-1-фенил-5(4H)-оксопиразол-4-ил)метилена (в Па) несколько снижает фармакологический ответ.

Не менее значимым является антиагрегантная активность по отношению к тромбоцитам изученных соединений. Выявлено, что соединения Пб – г превосходят по величине антиагрегантного действия кислоту ацетилсалициловую (табл. 4). Уровень действия соединений зависит от N-заместителя у индольного ядра молекулы: уменьшение длины полиметиленовой цепочки при атоме азота 1,2-аминоспирта в ряду от 2-гидрокси-3-(дибутиламино)пропильного (Па) к 2-гидрокси-3-(дипропиламино)пропильному (Пб) и к 2-гидрокси-3-[бутил(метил)амино]пропильному (Пг) заместителю приводит к усилению фармакологического действия.

В то же время для изученных соединений Па, б, г не характерно влияние на вязкостные характеристики крови, что подтверждается отсутствием их влияния на индекс агрегации эритроцитов.

Таким образом, можно отметить, что аминоспирты индольного ряда Па – г имеют достаточно широкий спектр фармакологической активности. При этом, в первую очередь, можно выделить их выраженное антиагрегантное и антиоксидантное действие. Также интересным представляется их способность подавлять пуринергические влияния. В меньшей степени изученные соединения способны влиять на 5-НТ₂- и

5-HT₃-серотониновые рецепторы, оказывать антиаритмическое действие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Европейский патент EP 444451 A2, *Chem. Abstr.*, **116**, 6406 (1992).
2. A. B. Maya, C. Perez-Melero, and N. Salvado, *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 2097 – 2107 (2005).
3. E. Caballero, A. Adeva, and S. Caldero, *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 3413 – 3421 (2003).
4. R. Di Santo, R. Costi, M. Artico, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 2511 – 2526 (2002).
5. Патент РФ 2408592; *Chem. Abstr.*, **154**, 125248 (2011).
6. К. Ф. Суздалев, М. Н. Бабакова, *Ж. орган. химии*, **41**(2), 243 – 246 (2005).
7. V. A. Anisimova, A. A. Spasov, I. E. Tolpygin, et al., *Pharm. Chem. J.*, **44**(7), 345 – 351 (2010).
8. М. Р. Сакаев, И. В. Миндукшев, Е. Е. Лесиовская и др., *Эксперим. клин. фармакол.*, **63**(3), 65 – 69 (2000).
9. S. Yoshida, T. Watanabe, Y. Sato, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 3515 – 3523 (2007).
10. G. V. R. Born, *Nature*, **194**, 927 – 929 (1962).
11. М. Б. Плотников, А. А. Колтунов, О. И. Алиев, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **59**(6), 54 – 55 (1996).
12. А. Н. Кудрин, Я. И. Зайдлер, *Фармакол. и токсикол.*, **31**(1), 41 – 44 (1968).
13. В. З. Ланкин, С. М. Гуревич, Е. Б. Бурлакова, *Биоантиокислители*, Т. 52, Наука, Москва (1975), сс. 73 – 78.

Поступила 23.09.11

SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF AMINO ALCOHOLS OF THE INDOLE SERIES

K. F. Suzdalev¹, A. A. Spasov², D. S. Yakovlev², V. A. Kosolapov², A. F. Kucheryavenko², N. A. Gurova², L. V. Naumenko², V. A. Kuznetsova², O. Y. Grechko², N. A. Kolobrodova³, T. M. Mitina², D. V. Mal'tsev², M. N. Babakova¹, S. V. Den'kina¹

¹ Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344090, Russia;

² Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131, Russia;

³ Volgograd Medical R&D Center, Volgograd, Russia

Oxirane ring opening in 1-oxiranylmethylindoles leads to new indole derivatives containing 1,2-amino alcohol moiety at the nitrogen atom. The synthesized substances have investigated with respect to various types of pharmacological activity characteristic of this class of compounds, including 5-HT₂-, 5-HT₃-, and P2Y₁ receptor antagonist, κ-opioid receptor agonist, antiplatelet, hemorheological, antiarrhythmic, and antioxidant properties.

Keywords: indole, 1-oxiranylmethylindoles, 1,2-amino alcohols of indole series, hemorheological activity, antiplatelet activity, antioxidant, antiarrhythmic, 5-HT₂ antagonist, 5-HT₃ antagonist, P2Y₁ antagonist, κ-opioid activity, ketanserin, ondansetron, basile blue, U50,488 opioid receptor agonist, quinidine, acetylsalicylic acid, pentoxifylline, dibunol