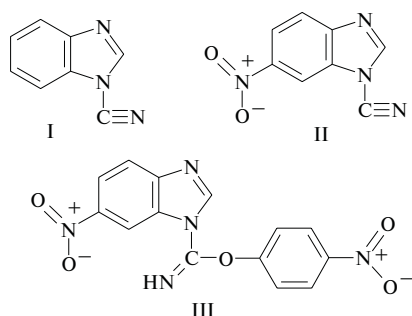


СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 1-ЦИАНОБЕНЗИМИДАЗОЛА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС

Самарский государственный университет, Самара

Производные бензимидазола обладают способностью повышать сопротивляемость организма к воздействию неблагоприятных факторов [1].

Ранее нами были описаны лейкоцитарные реакции, вызываемые введением животным 1-цианобензимидазола (I) [2, 3]. В настоящей работе изучено влияние I, 6-нитро-1-цианобензимидазола (II) и 1-(4-нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазола (III) на резистентность эритроцитов.



Экспериментальная химическая часть

ИК-Спектры синтезированных соединений регистрировали на спектрофотометре ИКС-29. Спектры ЯМР регистрировали на приборах Bruker WP-200 SY (рабочая частота 200,13 МГц), Bruker AC-80 (рабочая частота 80 МГц) и Bruker WM-250 (рабочая частота 250 МГц). В качестве растворителя применяли ДМСО-*d*₆ и CD₃CN. Отсчет химических сдвигов проводили относительно сигнала ТМС. Тонкослойную хроматографию проводили на пластинах Silufol UV-254.

1-Цианобензимидазол (I) [4].

Бензимидазол (3,100 г, 2,625 ммоль) растворяют в абсолютном бензоле (200 мл) и после растворения основной массы бензимидазола приливают раствор бромциана (1,390 г, 1,311 ммоль) в абсолютном бензоле (80 мл), при этом наблюдается образование гидробромида бензимидазола. Смесь доводят до кипения и выдерживают 1 ч. Затем реакционную массу охлаждают до 30°C и отделяют выпавший гидробромид бензимидазола на фильтре Шотта. Фильтрат упаривают на роторном испарителе при давлении 20 мм рт.ст. и температуре не выше 50°C. Получают 1-цианобензимидазол в виде игольчатых кристаллов. 1-Цианобензимидазол не проявляет ярко выраженного лакриматорного действия. Выход 75 %; т. пл. 105 – 106°C. ПМР-спектр, δ, м.д.: 7,50 т; 7,67 т; 7,96 д и 8,15 д. С₈H₅N₃.

6-Нитро-1-цианобензимидазол (II).

6-Нитробензимидазол (1,970 г, 1,2 ммоль) растворяют в гексаметилдисульфиде (ГМДС) (2,608 мл). Силлирование проводят при нагревании в течение 3

дней, образуется кристаллический осадок. В вакууме (20 мм рт.ст.) отгоняют избыток ГМДС досуха. Полученный осадок растворяют в смеси абсолютного бензола (25 мл) и толуола (25 мл), добавляют бромциан (1,281 г, 1,2 ммоль) и кипятят 2 ч. По мере протекания реакции осадок растворяется. Затем реакционную массу упаривают на роторном испарителе при давлении 20 мм рт.ст. и температуре не выше 50°C. Выход 70 %; т. пл. 154 – 155°C. ПМР-спектр, δ, м.д.: 9,22 с (1H, C²-H), 8,71 д (1H, C⁷-H), 8,37 т (1H, C⁵-H, J 4,46 Гц). С₈H₄N₄O₂.

1-(4-Нитрофенилокси-[Z,E]-карбимино)-6-нитробензимидазол (III).

Растворяют 6-нитро-1-цианобензимидазол (0,040 г, 0,28 ммоль) и 4-нитрофенол (0,039 г, 0,28 ммоль) в 5 мл абсолютного бензола. Смесь кипятят 1 ч. После отгонки растворителя полученное масло промывают диэтиловым эфиром (3 × 3 мл). Полученный кристаллический осадок высушивают в вакууме. Выход 47 %; т. пл. 112,5 – 114,5°C. ПМР-спектр, δ, м.д.: 3,33 уш. с (1H, NH), 6,72 д (J 9,2 Гц, 2H, C₆H₄), 7,24 – 7,32 м (2H, C^{5,6}-H), 7,58 – 7,66 м (2H, C^{4,7}-H), 7,91 д (J 9,2 Гц, 2H, C₆H₄), 8,69 с (1H, C²-H). С₁₄H₉N₅O₅.

Экспериментальная биологическая часть

Изменение резистентности эритроцитов крыс в условиях воздействия производных бензимидазола изучали в условиях *in vivo* и *in vitro*. В исследованиях *in vivo* животным опытных групп пятикратно с интервалом в 48 ч внутрибрюшинно вводили по 1 мл раствора одного из азолов в дозе 1 мг на 100 г массы тела. Контрольным животным в том же объеме вводили физиологический раствор. Кровь на исследование брали до начала введений, через 2,5 и 24 ч после каждой инъекции, а затем в течение трех недель после их окончания.

Непосредственное воздействие соединений I – III (в концентрациях 10⁻⁶ – 10⁻³ М при длительности инкубации 15 мин) изучали на отмытых в изотоническом буферном растворе эритроцитов, из которых готовили взвеси (к 20 мл раствора добавляли по 20 мкл приготовленных эритроцитов). Резистентность клеток эритроцитов изучали методом кислотных эритрограмм [5 – 7]. Метод предполагает регистрацию на фотоэлектроколориметре оптической плотности взвеси эритроцитов, величина которой изменяется по мере разрушения клеток под действием 0,004 н. раствора хлористоводородной кислоты. После соответствующих вычислений значения оптической плотности исследуемых проб переводили в количество гемолизиро-

Влияние производных бензимидазола на время (с) разрушения соляной кислотой 10 (τ_{10}), 50 (τ_{50}) и 90 (τ_{90}) % эритроцитов в условиях *in vitro*

Показатель	Контроль <i>n</i> = 10	1-цианобензимидазол				6-нитро-1-цианобензимидазол			4'-фенилокси-[Z,E]-карбимино-6-нитробензимидазол		
		10^{-5} М	10^{-4} М	10^{-3} М	10^{-5} М	10^{-4} М	10^{-3} М	10^{-5} М	10^{-4} М	10^{-3} М	
		<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	<i>n</i> = 6	
τ_{10}	81,1 ± 2,3	83,3 ± 3,8	86,5 ± 4,1	95,8 ± 5,2*	76,0 ± 6,0	70,1 ± 3,2*	67,0 ± 3,5*	73,1 ± 1,9	72,5 ± 3,8	65,4 ± 4,2*	
τ_{50}	220,8 ± 6,9	235,2 ± 7,8	259,0 ± 4,8*	291,4 ± 6,9**	199,2 ± 8,7	156,3 ± 7,3**	141,5 ± 5,7**	205,8 ± 5,2	163,1 ± 8,9*	148,3 ± 8,2**	
τ_{90}	345,0 ± 7,2	367,7 ± 6,5	389,1 ± 7,1*	436,3 ± 8,4**	314,2 ± 9,0	288,5 ± 6,5**	258,6 ± 4,8**	307,9 ± 8,1	279,3 ± 7,3**	247,9 ± 8,1**	

* $p < 0,05$.
** $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

ванных клеток за определенные интервалы времени. Регистрировали время разрушения гемолитиком 10 (τ_{10}), 50 (τ_{50}) и 90 (τ_{90}) % клеток. По полученным данным строили эритрограммы и кривые кинетики гемолиза, позволяющие охарактеризовать распределение циркулирующей популяции эритроцитов по степени их стойкости, определить начало, интенсивность и конец гемолиза [5, 6]. Экспериментальные данные подвергали статистическому анализу с определением уровня значимости различий по Стьюденту.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что изучаемые азолы различным образом модулируют матричные свойства эритроцитов.

В условиях целого организма соединение I повышает устойчивость эритроцитов к повреждающему действию соляной кислоты. Так, до воздействия соединения I процесс разрушения эритроцитов начинается через 2 мин после добавления к их взвеси гемолитика, достигает наибольшей интенсивности через 4,5 мин и заканчивается через 7,5 мин. После введения крысам I кривые процесса гемолиза по всему спектру характеристик перемещаются вправо (в сторону больших интервалов времени), что указывает на увеличение в периферическом русле количества средне- и высокоустойчивых эритроцитов. Уже после первой инъекции соединения I лизис эритроцитов под влиянием гемолитика начинается через 4,0 мин и заканчивается через 9,5 мин ($p < 0,05$), после четвертого и пятого введений I общее время гемолиза удлиняется с 7,5 до 12 мин ($p < 0,01$).

После введения соединения II наблюдается снижение резистентности эритроцитов. Об этом свидетельствует смещение эритрограмм и их максимума влево относительно контрольного положения, что означает увеличение скорости распада эритроцитов и сокращение времени от начала до полного завершения химического гемолиза. Если до введения животным соединения II количество разрушенных эритроцитов через 2,5 мин от начала контакта с соляной кислотой составляет 5 % и через 5,0 мин — 65 %, то после четвертого введения вещества — уже 27 и 92 % соответственно ($p < 0,01$). Общая продолжительность лизиса уменьшается с 7,5 до 5,5 мин ($p < 0,05$).

Под влиянием соединения III выявляется двухфазное изменение кислотной резистентности эритроцитов: снижение их устойчивости к гемолитику, имевшее место на фоне первых инъекций вещества, сменяется впоследствии увеличением.

При изучении непосредственного действия исследуемых азолов на функциональное состояние эритроцитов в опытах *in vitro* также получены различные результаты. Как видно из данных, приведенных в таблице, соединение I повышает резистентность эритроцитов (время гемолиза клеток под влиянием соляной кислоты существенно увеличивается), тогда как соединения II оказывают противоположное действие.

Согласно полученным данным, среднее время разрушения 50 % эритроцитов, предварительно обработанных I, в концентрациях от 10^{-5} до 10^{-3} М, увеличиваются на 18,3 % и сокращаются после инкубации с II и III на 24,8 и 21,7 % соответственно.

Установленные факты позволяют рекомендовать дальнейшее получение и изучение новых соединений бензимидазольного ряда с перспективой разработки на их основе высокоэффективных препаратов, способных повышать неспецифическую сопротивляемость организма к неблагоприятным воздействиям.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 01-04-48830).

ЛИТЕРАТУРА

1. М. А. Розин, *Клетка и неспецифическая сопротивляемость организма. Цитологический анализ механизма действия бензимидазола*, Наука, Ленинград (1967), с. 148.
2. В. Е. Кузьмина, Л. И. Сергеева, П. П. Пурыгин, Н. А. Белякова, *Вестник СамГУ*, **2**, 133 – 139 (1999).
3. П. П. Пурыгин, В. Е. Кузьмина, Л. И. Сергеева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **34**(2), 11 – 13 (2000).
4. П. П. Пурыгин, С. В. Паньков, *Ж. орган. химии*, **31**(6), 934 – 936 (1995).
5. И. А. Терсков, И. И. Гительзон, *Биофизика*, **2**(2), 259 – 266 (1957).
6. И. А. Терсков, И. И. Гительзон, *Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов*, Красноярск (1961), сс. 4 – 10.
7. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования*, Е. А. Кост (ред.), Медицина, Москва (1975), с. 383.

Поступила 09.07.01