

DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-5-3-9
© Коллектив авторов, 2018

О. Н. Жуковская^{1*}, А. А. Спасов^{2, 3}, Т. А. Кузьменко¹, А. С. Морковник¹,
А. Ф. Кучерявенко², В. А. Анисимова¹, О. А. Салазникова², К. А. Гайдукова²,
В. А. Кузнецова², Д. А. Бабков², О. Ю. Гречко², Н. В. Елисеева², А. И. Ращенко²

СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИФТОРМЕТИЛСОДЕРЖАЩИХ ИМИДАЗО[1,2-а]БЕНЗИМИДАЗОЛОВ

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

* e-mail: zhukowskaia.ol@yandex.ru

² Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, Волгоград.

³ Волгоградский медицинский научный центр, Россия, Волгоград.

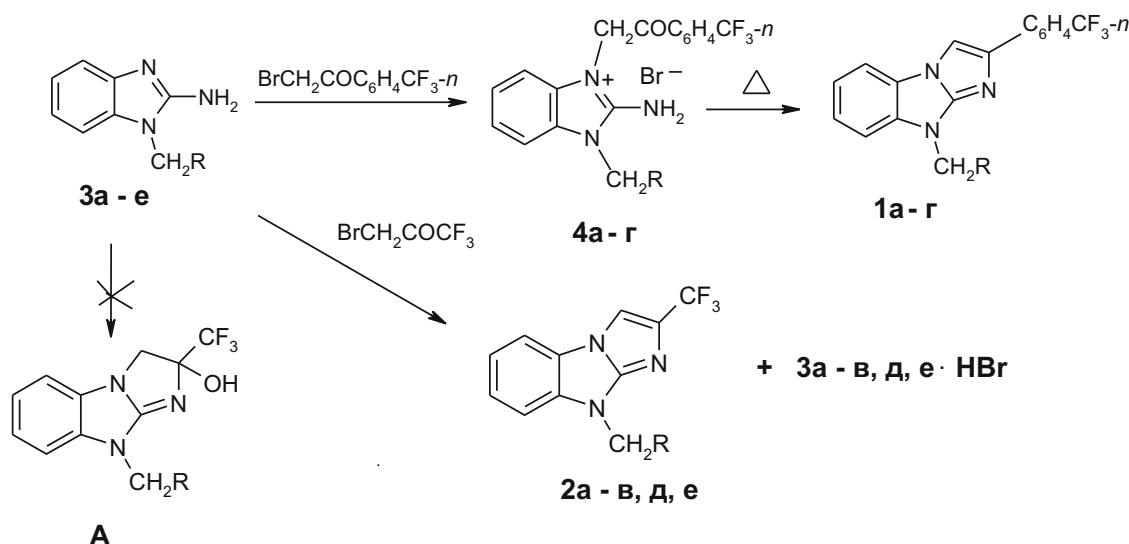
Действием на 2-амино-1-диалкиламиноалкилбензимидазолы 2-бром-1-[(4-трифторметил)фенил]этаном или 1-бром-3,3,3-трифторацетоном впервые синтезированы 2-(4-трифторметилфенил)- и 2-трифторметил-9-диалкиламиноалкилимидазо[1,2-а]бензимидазолы, протестированные на обезболивающее и антиагрегантное действие, гликогенфосфорилаза и дипептидилпептидаза-4 ингибирующую активности, а также на процессы гликирования бычьего сывороточного альбумина *in vitro*.

Ключевые слова: 2-(4-трифторметилфенил)- и 2-трифторметилимидазо[1,2-а]бензимидазолы; антиагрегантная, обезболивающая, антидиабетическая активность.

Лекарственные препараты на основе фторсодержащих гетероциклических молекул заняли одно из ведущих мест в современной фармакологии [1–4]. Это вызывает устойчивый интерес к разработке методов синтеза более совершенных фторированных аналогов биологически активных гетероциклов. Не стал исключением и изучаемый нами имидазо[1,2-а]бензимидазол, фторсодержащие производные которого являются высокоэффективными анальгетиками с каппа-опиоидной агонистической активностью [5–8], проявляют

свойства местных анестетиков [9, 10], обладают антиагрегантным и антитромботическим действием [11, 12]. Обнаружено, что ряд 2,9-замещенных имидазо[1,2-а]бензимидазола проявляет гипогликемическую активность, что делает интересным изучение их влияния на антидиабетические мишени [13, 14].

Известны 9-арил-2-трифторметилимидазо[1,2-а]бензимидазолы, полученные циклизацией солей 1-арил-3-алкоксикарбонилметил-2-аминобензимидазолия трифторуксусным ангидридом, которые являются антаго-



А
1–4: R = CH₂N(Et)₂ (а); R = CH₂-пиперидин-1-ил (б); R = CH₂-морфолин-4-ил (в).
1, 3, 4: R = CH₂N(Me)₂(г). 2,3: R = CH₂-пирролидин-1-ил (д); R = H (е).

Схема синтеза 2-(4-трифторметилфенил)- и 2-трифторметил-9-замещенных имидазо[1,2-а]бензимидазолов.

нистами рецептора 1-кортикотропин рилизинг гормона [15]. Описаны 2-трифторметил-3-арилимидазобензимидазолы [16] и 3-ацилимидазобензимидазолы, содержащие фтор- и трифторметильные заместители в бензимидазольном фрагменте молекулы [17, 18].

В настоящей работе впервые синтезированы 2-(4-трифторметилфенил)- (1а–г) и 2-трифторметил-9-диалкиламиноалкилимидазо[1,2-а]бензимидазолы (2а–в, д, е) и исследованы некоторые виды их биологической активности. Синтез соединений 1 и 2 проводился по традиционной для имидазо[1,2-а]бензимидазолов двухстадийной схеме [19, 20], включающей реакцию кватернизации 2-амино-1-диалкиламиноалкилбензимидазолов 3а–г 2-бром-1[(4-трифторметил)фенил]этанолем с последующей циклизацией образующихся четвертичных солей 4а–г.

Соли 4 образуются с почти количественным выходом при нагревании реагентов в ацетоне и могут быть использованы для дальнейших превращений без дополнительной очистки. Их строение подтверждается наличием в ИК-спектрах полосы поглощения карбонильной группы в области $1690 - 1700 \text{ см}^{-1}$ и 2 полос валентных колебаний аминогруппы при $3030 - 3170 \text{ см}^{-1}$. Циклизация солей 4 в трициклические структуры 1 успешно протекает при кипячении в воде. Несмотря на то, что в соединениях 1 электрооакцепторная группа CF_3 непосредственно не связана с гетероциклическим кольцом, в спектре ЯМР ^1H соединения 1в в CDCl_3 наблюдается слабopольное смещение синглета протона H^3 в область 7,7 м.д., тогда как обычно в π -избыточной имидазобензимидазольной системе, склонной к легкому электрофильному замещению по положению 3, сигнал этого протона расположен в самом сильном поле по отношению к остальным ароматическим протонам — в области 7,0 м.д. В спектрах ЯМР ^1H 9-замещенных имидазобензимидазолов в ДМСО из-за образования ими электростатически стабилизированных комплексов с растворителем сигнал протона H^3 наблюдается в области 8,0–8,1 м.д. [21], в соединении 1в этот сигнал еще более сдвинут в слабое поле, в область 8,4 м.д.

Для получения по той же схеме имидазобензимидазолов 2 в качестве исходного бромкетона использовался весьма чувствительный к присутствию влаги 1-бром-3,3,3-трифторацетон. Оказалось однако, что в условиях образования солей 4 в кипящем ацетоне, а также в абсолютных низших спиртах и ТГФ эта реакция сопровождается самопроизвольной циклизацией в 2-трифторметилимидазобензимидазолы 2а–в, д, е, при этом половина исходного амина 3 связывается выделяющимся бромистым водородом. При добавлении в реакционную смесь триэтиламина происходит значительное осмоление, и повысить выход соединений 2 таким путем не удастся. Отметим существенное отличие реакционной способности 2-аминобензимидазолов по сравнению с 2-аминопиридином и 2-аминобензотиазолом, образующих с 1-бром-3,3,3-трифторацетоном с высоким выходом стабильные циклические ами-

нали типа А [22, 23], которые в нашем случае зафиксировать не удалось.

Спектры ЯМР ^1H соединений 2в, е в CDCl_3 также характеризуются слабopольным сдвигом сигнала протона H^3 (7,7 м.д.), но из-за пространственной близости группы CF_3 этот сигнал проявляется в виде не полностью разрешенного квартета (J^{HF} 1,2 Гц). В спектре ЯМР ^{13}C соединения 2в, снятом со спиновой развязкой от протонов, наряду с другими сигналами присутствуют 3 квартета при 106,02 (J^{CF} 4,8 Гц), 121,78 (J^{CF} 267,1 Гц), 133,91 (J^{CF} 38,2 Гц), относящиеся к CF_3 группе и ближайшим к ней атомам углерода в положениях 3 и 2. Строение 9-метилпроизводного 2е подтверждено и данными масс-спектра, в котором имеется интенсивный пик молекулярного иона m/z 239. В спектрах же морфолиноэтилзамещенных 1в и 2в пик молекулярного иона отсутствует, вероятно, из-за легкой деструкции С-С связи в этиленовой группе N^9 -заместителя, на что указывает высокая интенсивность пика ионного фрагмента CH_2 -морфолино m/z 100 (100 %).

Для проведения фармакологических исследований получены водорастворимые гидрохлориды имидазобензимидазолов 1 и 2, причем в отличие от большинства 2-арил-9-диалкиламиноалкилимидазобензимидазолов, протонирующихся по атомам азота N^1 гетерокольца и боковой цепи [5–10, 19, 20], в нашем случае образуются только моногидрохлориды 1а–г·HCl и 2а–в, д·HCl.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры сняты на приборе Varian Excalibur 3100 FT-IR методом нарушенного полного внутреннего отражения в порошке. Спектры ЯМР ^1H записаны на спектрометре Varian Unity-300 (300 МГц) для солей 1, 2 и 4 в DMSO-d_6 с измерением химических сдвигов относительно остаточных протонов дейтерорастворителя. Спектр ЯМР ^{13}C снят на приборе Bruker Avance 600 N. Температуры плавления определены на приборе Fisher-Johns Melting Point Apparatus. Масс-спектры веществ 1в и 2в, е зарегистрированы с использованием метода электронной ионизации на масс-спектрометре Shimadzu GCMS-QP 2010 SE прямым вводом образца в ионный источник (70 эВ). Контроль за протеканием реакций и индивидуальностью полученных соединений осуществлялся методом ТСХ в хлороформе на пластинках с Al_2O_3 III степени активности, проявление парами йода во влажной камере. Данные элементного анализа на азот синтезированных соединений соответствуют вычисленным значениям в пределах обычных отклонений.

Бромиды 1-(2-диалкиламиноэтил)-3-[(4-трифторметилфенил)-2-оксоэтил]-2-аминобензимидазолия (4). Общая методика. В горячий раствор 4 ммоль амина 3 в ацетоне вносят 4 ммоль 2-бром-1[(4-трифторметил)фенил]этанона и оставляют стоять при комнатной температуре в течение 6–8 ч. Выделившийся осадок отфильтровывают, промывают ацето-

ном. Полученные соли хроматографически индивидуальные и их вводят в реакцию циклизации без дополнительной очистки.

Выходы, температуры плавления соединений **4** приведены в табл. 1.

Бромид 1-(2-диэтиламиноэтил)-3-[(4-трифторметилфенил)-2-оксоэтил]-2-аминобензимидазолия (4а). ИК-спектр, ν , см^{-1} : 3171, 3026, 1700, 1662. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0,82 (т, J 7,0 Гц, 6H, 2Me), 2,49 (кв, J 6,5 Гц, 4H, 2CH₂Me), 2,74 (т, J 6,8 Гц, 2H, CH₂), 4,30 (т, J 6,9 Гц, 2H, N_{Het}-CH₂), 6,02 (с, 2H, CH₂CO), 7,28 – 7,35 (м, 2H, 5,6-Н), 7,62 (д, J 7,5 Гц, 2H, 4,7-Н), 8,03 (д, J 8,4 Гц, 2H, 3',5'-Н), 8,27 (д, J 8,1 Гц, 2H, 2',6'-Н), 8,97 (уш. с., 2H, NH₂).

9-(2-Диалкиламиноэтил)-2-(4-трифторметилфенил)имидазо[1,2-а]бензимидазолы (1). Общая методика. Раствор 3 ммоль бромида **4** в 40 мл воды кипятят 4 – 5 ч, охлаждают, подщелачивают конц. NH₄OH и выделившийся осадок отфильтровывают. Очищают хроматографированием на колонке с Al₂O₃, элюент — хлороформ, отбирая фракцию с R_f 0,7.

Для получения водорастворимых гидрохлоридов **1а – г · HCl** остаток после испарения CHCl₃ растворяют в пропаноле-2 и подкисляют насыщенным раствором HCl в 2-PrOH до pH 2 – 3. Соединения **1**, за исключением **1в**, идентифицированы в виде гидрохлоридов. Их выходы, температуры плавления и спектры ЯМР ^1H приведены в табл. 1, 2.

9-[2-(Морфолин-4-ил)этил]-2-(4-трифторметилфенил)имидазо[1,2-а]бензимидазол (1в). Выход 85 %, T_{пл.} 87 – 89 °C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д. (CDCl₃): 2,56 – 2,57 (м, 4H, 2NCH₂-морфолинил), 2,89 (т, J 6,8 Гц, 2H, CH₂), 3,61 – 3,63 (м, 4H, CH₂OCH₂), 4,34 (т, J 6,8 Гц, 2H, N_{Het}-CH₂), 7,17 – 7,20 (м, 1H, 6- или 7-Н), 7,29 – 7,32 (м, 2H, 7 или 6-Н и 8-Н), 7,53 (д, J 7,9 Гц,

1H, 5-Н), 7,61 (д, J 8,2 Гц, 2H, 2', 6'-Н), 7,70 (с, 1H, 3-Н), 7,94 (д, J 8,1 Гц, 2H, 3', 5'-Н).

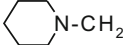
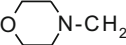
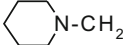
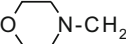
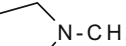
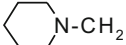
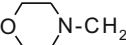
Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д. (DMCO-d₆): 2,42 – 2,49 (м, 4H, 2NCH₂-морфолинил), 2,80 (т, J 6,3 Гц, 2H, CH₂), 3,42 – 3,46 (м, 4H, CH₂OCH₂), 4,34 (т, J 6,3 Гц, 2H, N_{Het}-CH₂), 7,21 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,34 (т, J 8,0 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,60 (д, J 8,4 Гц, 1H, 8-Н), 7,72 (д, J 8,1 Гц, 2H, 2', 6'-Н), 7,76 д, J 8,1 Гц, 1H, 5-Н), 8,04 (д, J 8,4 Гц, 2H, 3', 5'-Н), 8,37 (с, 1H, 3-Н).

2-Трифторметил-9-(CH₂-R)-имидазо[1,2-а]бензимидазолы (2). Общая методика.

А. Раствор 5 ммоль соответствующего 2-амино-1-(CH₂-R)-бензимидазола **3** и 0,31 мл (3 ммоль) 1-бром-3,3,3-трифторацетона в 10 мл абсолютного метанола кипятят 5 ч. Упаривают досуха, остаток обрабатывают 10 мл воды, экстрагируют 15 мл хлороформа (5 мл × 3) и хлороформный экстракт хроматографируют на колонке с Al₂O₃ (2 × 25 см, элюент — хлороформ), отбирая фракцию с R_f 0,6. Для получения водорастворимых гидрохлоридов **2а – в, д · HCl** остаток после испарения CHCl₃ растворяют в 10 мл ацетона и подкисляют конц. HCl до pH 1. Выделяющийся при этом осадок отфильтровывают и промывают ацетоном. Выходы, температуры плавления и спектр ЯМР гидрохлоридов **2а – в, д** приведены в табл. 1, 2.

Б. Раствор 5 ммоль 2-амино-1-(CH₂-R)бензимидазола и 0,31 мл (3 ммоль) 1-бром-3,3,3-трифторацетона в 10 мл абсолютного ТГФ кипятят 1 – 1,5 ч. При этом из реакционной массы сразу же начинает выделяться бесцветный осадок гидробромида исходного амина, а раствор приобретает темно-зеленую окраску. После охлаждения осадок отфильтровывают, маточный раствор упаривают досуха и остаток хроматографируют на колонке с Al₂O₃, элюент — хлороформ, отделяя фракцию R_f 0,6.

Таблица 1
Температура плавления и выход гидрохлоридов 9-R-2-(4-трифторметилфенил)-, 2-трифторметилимидазо[1,2-а]бензимидазолов (1, 2) и бромидов 1-R-3-[(4-трифторметилфенил)-2-оксоэтил]-2-аминобензимидазолия (4)

Соединение	R	Брутто-формула	Выход, %	T _{пл.} , °C
1а · HCl	(C ₂ H ₅) ₂ NCH ₂	C ₂₂ H ₂₃ F ₃ N ₄ · HCl	80	225 – 227
1б · HCl		C ₂₃ H ₂₃ F ₃ N ₄ · HCl	96,5	278 – 280
1в · HCl		C ₂₂ H ₂₁ F ₃ N ₄ O · HCl	81	273 – 275
1г · HCl	(CH ₃) ₂ NCH ₂	C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₄ · HCl	92	238 – 240
2а · HCl	(C ₂ H ₅) ₂ NCH ₂	C ₁₆ H ₁₉ F ₃ N ₄ · HCl	35	179 – 180
2б · HCl		C ₁₇ H ₁₉ F ₃ N ₄ · HCl	38	186 – 187
2в · HCl		C ₁₆ H ₁₇ F ₃ N ₄ O · HCl	36	208 – 210
2д · HCl		C ₁₆ H ₁₇ F ₃ N ₄ · HCl	40	221 – 222
4а	(C ₂ H ₅) ₂ NCH ₂	C ₂₂ H ₂₅ F ₃ N ₄ OHBr	93	190 – 192
4б		C ₂₃ H ₂₅ F ₃ N ₄ OHBr	95	223 – 225
4в		C ₂₂ H ₂₃ F ₃ N ₄ O ₂ HBr	97	194 – 196
4г	(CH ₃) ₂ NCH ₂	C ₂₀ H ₂₁ F ₃ N ₄ O HBr	90	185 – 187

9-[2-(Морфолин-4-ил)этил]-2-трифторметилимидазо[1,2-*a*]бензимидазол (2в). Выход 36 %, $T_{пл}$ 87 – 88 °С (изооктан). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д. (CDCl₃): 2,51 – 2,52 (м, 4H, 2NCH₂-морфолинил), 2,18 (т, J 6,9 Гц, 2H, CH₂), 3,58 – 3,60 (м, 4H, CH₂OCH₂), 4,33 (т, J 6,9 Гц, 2H, N_{нет}-CH₂), 7,21 – 7,25 (м, 1H, 6- или 7-Н), 7,35 – 7,39 (м, 2H, 7 или 6-Н и 8-Н), 7,55 – 7,57 (м, 1H, 5-Н), 7,70 (кв, J 1,2 Гц, 1H, 3-Н). C₁₆H₁₇F₃N₄O.

9-Метил-2-трифторметилимидазо[1,2-*a*]бензимидазол (2е). Выход 27 %, $T_{пл}$ 117 – 118 °С (изооктан). Спектр ЯМР 1H , δ , м.д. (CDCl₃): 3,82 (с, 3H, CH₃), 7,22 – 7,43 (м, 3H, 6, 7, 8-Н), 7,54 (д, J 7,8 Гц, 1H, 5-Н), 7,72 (кв, J 1,2 Гц, 1H, 3-Н). C₁₁H₈F₃N₃. Масс-спектр, m/z ($I_{отн}$, %): 239 (100) [M]⁺. (Вычислено: 239,2).

Экспериментальная фармакологическая часть

Данные о фармакологической активности веществ **1** и **2** представлены в табл. 3 – 6.

Влияние соединений в концентрации 100 мкМ на агрегацию тромбоцитов кроликов определяли *in vitro* по методу, описанному в работе [24]. Агрегацию тромбоцитов индуцировали АДФ (аденозиндифосфорная кислота, Reanal, Венгрия) в концентрации 5 мкМ. Исследование проводили на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов 230 LA (НПФ “Биола”, Россия). Активность веществ определяли как отношение уровня АДФ-индуцируемой агрегации тромбоцитов под действием изучаемого вещества относительно уровня АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов контрольных образцов (в $\Delta\%$). Наиболее активное вещество изучали в концентрациях 400, 200

и 50 мкМ для расчета IC₅₀ (концентрация, ингибирующая процесс агрегации тромбоцитов на 50 %). В качестве препарата сравнения была выбрана ацетилсалициловая кислота (Sigma, США).

Для оценки ингибиторной активности соединений в отношении дипептидилпептидазы-4 вносили 40 мкл человеческой плазмы крови в 50 мкл 0,1 М трис-НСl буферного раствора (рН 8,0). В полученную смесь добавляли 10 мкл раствора исследуемого вещества заданной концентрации в трис-буферном растворе и преинкубировали при 37 °С в течение 5 мин. Затем вносили в реакционную смесь 100 мкл 1 мМ раствора субстрата дипептидилпептидазы-4 Гли-Про-*n*-нитроанилида (Sigma, США). Инкубировали при 37 °С в течение 15 мин и регистрировали образование *n*-нитроанилина по величине оптической плотности при длине волны 405 нм [25], используя микропланшетный ридер Infinite M 200 PRO (Tecan, Австрия). В качестве препарата сравнения использовали вилдаглиптин (Sigma, США).

Для оценки ингибиторной активности соединений в отношении гликогенфосфорилазы 100 мкл 50 мМ HEPES буферного раствора (рН 7,2), содержащего 100 мМ KCl, 2,5 мМ MgCl₂, 0,5 мМ глюкозо-1-фосфата (Sigma, США) и 1 мг/мл гликогена, преинкубировали с мышечной гликогенфосфорилазой кролика (Sigma, США) и 5 мкл раствора исследуемого вещества заданной концентрации при 30 °С в течение 30 мин. Затем вносили в реакционную смесь 150 мкл раствора, содержащего 1,05 % (NH₄)₂MoO₄ и 0,034 % малахитового зеленого. Инкубировали при 30 °С в течение 20 мин

Таблица 2

Спектры ЯМР 1H гидрохлоридов **1а – г** и **2а – в, д**

Соединение	Химические сдвиги, δ , м.д. (J, Гц)
1а · HCl	1,25 (т, J 7,2 Гц, 6H, 2Me), 3,28 (кв, J 6,5 Гц, 4H, 2CH ₂ Me), 3,50 (т, J 6,6 Гц, 2H, CH ₂), 4,82 (т, J 6,9 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,36 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,46 (т, J 7,8 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,82 (д, J 8,4 Гц, 2H, 2',6'-Н), 7,87 – 7,91 (м, 2H, 5,8-Н), 8,12 (д, J 7,8 Гц, 2H, 3',5'-Н), 8,62 (с, 1H, 3-Н), 10,54 (с, 1H, N ⁺ H)
1б · HCl	1,31 · 1,81 (м, 6H, β и γ -N _{пиперидил}), 2,94 – 3,05 (м, 2H, α -N _{пиперидил}), 3,67 (т, J 6,0 Гц, 2H, CH ₂), 3,70 – 3,78 (м, 2H, α -N _{пиперидил}), 4,81 (т, J 6,4 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,38 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,48 (т, J 7,8, 1H, 7-или 6-Н), 7,82 (д, J 8,1 Гц, 2H, 2',6'-Н), 7,91 – 7,93 (м, 2H, 5,8-Н), 8,14 (д, J 7,8 Гц, 2H, 3',5'-Н), 8,65 (с, 1H, 3-Н), 10,60 (с, 1H, N ⁺ H).
1в · HCl	3,26 (уш.с., 2H, экв. N-CH ₂ -морфолинил), 3,59 – 3,63 (м, 4H, CH ₂ и акс. NCH ₂ -морфолинил), 3,80 (т, J 12,0 Гц, 2H, акс. OCH ₂ -морфолинил), 3,99 (д, J 12,0 Гц, 2H, экв. OCH ₂ -морфолинил), 4,81 (т, J 6,9 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,34 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,44 (т, J 7,8 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,79 (д, J 8,4 Гц, 2H, 2',6'-Н), 7,86 – 7,88 (м, 2H, 5,8-Н), 8,08 (д, J 7,8 Гц, 2H, 3',5'-Н), 8,54 (с, 1H, 3-Н), 10,86 (с, 1H, N ⁺ H).
1г · HCl	2,87 (с, 6H, 2Me), 3,68 (т, J 5,9 Гц, 2H, CH ₂), 4,87 (т, J 5,9 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,38 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,48 (т, J 7,8 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,82 (д, J 8,1 Гц, 2H, 2',6'-Н), 7,86 – 7,93 (м, 2H, 5,8-Н), 8,15 (д, J 8,1 Гц, 2H, 3',5'-Н), 8,68 (с, 1H, 3-Н), 10,72 (с, 1H, N ⁺ H).
2а · HCl	1,22 (т, J 7,2 Гц, 6H, 2Me), 3,25 (кв, J 6,5 Гц, 4H, 2CH ₂ Me), 3,57 (т, J 6,6 Гц, 2H, Et ₂ N CH ₂), 4,71 (т, J 6,9 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,31 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,44 (т, J 7,8 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,85 (д, J 7,8 Гц, 1H, 5- или 8-Н), 7,91 (д, J 7,8 Гц, 1H, 8- или 5-Н), 8,49 (кв, J 1,5 Гц, 1H, 3-Н), 10,83 (с, 1H, N ⁺ H).
2б · HCl	1,34 – 1,82 (м, 6H, β и γ -N _{пиперидил}), 2,94 – 3,04 (м, 2H, α -N _{пиперидил}), 3,50 (т, J 6,0 Гц, 2H, CH ₂), 3,60 – 3,83 (м, 2H, α -N _{пиперидил}), 4,72 (т, J 6,6 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,31 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,45 (т, J 7,8 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,82 (д, J 8,1 Гц, 1H, 5- или 8-Н), 7,92 (д, J 8,1 Гц, 1H, 8- или 5-Н), 8,48 (кв, J 1,2 Гц, 1H, 3-Н), 10,35 (с, 1H, N ⁺ H).
2в · HCl	3,22 (уш.с., 2H, экв. NCH ₂ -морфолинил), 3,58 – 3,61 (м, 4H, CH ₂ и акс. NCH ₂ -морфолинил), 3,79 (т, J 12,0 Гц, 2H, акс. OCH ₂ -морфолинил), 3,97 (д, J 12,0 Гц, 2H, экв. OCH ₂ -морфолинил), 4,79 (т, J 6,9 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,31 (т, J 7,5 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,44 (т, J 7,5 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,84 (д, J 7,8 Гц, 1H, 5- или 8-Н), 7,92 (д, J 7,8 Гц, 1H, 8- или 5-Н), 8,47 (кв, J 1,2 Гц, 1H, 3-Н), 11,4 (уш.с., 1H, N ⁺ H).
2д · HCl	1,80 – 2,00 (м, 4H, β -N _{пирролидил}), 3,12 (т, J 7,2 Гц, 2H, CH ₂), 3,61 – 3,7 (м, 4H, α -N _{пирролидил}), 4,64 (т, J 6,3 Гц, 2H, N _{нет} -CH ₂), 7,30 (т, J 7,8 Гц, 1H, 6- или 7-Н), 7,44 (т, J 7,8 Гц, 1H, 7- или 6-Н), 7,79 (д, J 8,1 Гц, 1H, 5- или 8-Н), 7,91 (д, J 8,1 Гц, 1H, 8- или 5-Н), 8,49 (кв, J 1,2 Гц, 1H, 3-Н), 10,60 (с, 1H, N ⁺ H).

и определяли количество высвобожденного фосфат-аниона по величине оптической плотности при длине волны 620 нм (адаптировано из [26], используя микропланшетный ридер Infinite M200 PRO (Tecan, Австрия). В качестве вещества сравнения использовали ингибитор гликогенфосфорилазы CP-316819 (Sigma, США) [27].

Реакцию гликирования белков моделировали в реакционной смеси, содержащей глюкозу (500 мМ) и бычий сывороточный альбумин (BSA, BioWest, Франция), (1 мг/мл), растворенные в фосфатном буферном растворе (рН 7,4) [28]. Все вещества растворяли в ДМСО. В экспериментальные образцы добавляли изучаемые вещества в конечной концентрации 10^{-3} М, в контрольные образцы добавляли растворитель в аналогичном объеме. Все экспериментальные образцы инкубировали в течение 24 ч при 60 °С. По истечении срока инкубации проводили определение специфической флуоресценции гликированного BSA на спектрофлуориметре F-7000 (Hitachi, Япония) при λ_{ex} 370 нм и λ_{em} 440 нм. Антигликирующую активность рассчитывали по отношению к показателю флуоресценции контрольных образцов. В качестве вещества сравнения использовали известный ингибитор неферментативного гликозилирования — аминогуанидин (Sigma-Aldrich, США) [29].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна — Уитни, табличного редактора Microsoft Excel 2007 и программы Graph Pad Prism 5.0.

Оценку каппа-агонистической активности проводили на приборе “Лайт-Скан” (НПФ “Люмекс”, Россия). Эксперименты проведены на тромбоцитах кроликов породы шиншилла. Богатую тромбоцитами плазму получали по способу, описанному [30]. Для этого веноз-

ную кровь, получаемую из краевой ушной вены кроликов, стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия (рН 6,0) в соотношении 9:1. Полученную кровь центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин на центрифуге Multicentrifuge CM 6M (Латвия).

Функциональную активность тромбоцитов исследовали методом малоуглового светорассеяния [31]. Эксперименты проводились в термостатируемой кюветной камере. Гомогенность и изотропность гидродинамического турбулентного режима обеспечивались специальной конструкцией мешалки. На кювету, содержащую 5 мл среды и 0,1 мл плазмы, обогащенной тромбоцитами, под углом 90° направляется свет от лазерного источника.

Исследуемые соединения, вещество сравнения — U-50,488 [(транс-3,4-дихлор-N-[2-(1-пирролидинилциклогексил)]бензацетамид)] (Sigma, США) — селективный агонист каппа-опиоидных рецепторов изучали в концентрации 10^{-4} моль. Для подтверждения специфичности каппа-опиоидного характера действия исследуемых веществ проводились тесты с norBNI (Sigma, США) — селективным каппа-антагонистом. Время инкубации всех веществ составляло 2 мин.

Для статистической обработки результатов скрининга использовали парный критерий Стьюдента с предварительной проверкой выборки на нормальность распределения.

Исследования обезболивающей активности выполнены на самцах белых нелинейных крыс массой 200 – 250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище, с естественным свето-темновым режимом. Для изучения анальгетических свойств использовали метод оценки термической соматической боли — тест “отдергивания хвоста” (поведенческая реакция отведения при

Таблица 3

Фармакологическая активность *in vitro* соединений 1 и 2 (n = 6)

Соединение	Антиагрегантная активность 10^{-4} М, Δ% (M ± m)	ГФ ингибирующая активность, Δ% (M ± m)		ДПП-4 ингибирующая активность, Δ% (M ± m)		Антигликирующая активность, Δ% (M ± m)	
		10^{-4} М	10^{-5} М	10^{-4} М	10^{-5} М	10^{-3} М	10^{-4} М
1a	20,01 ± 1,07	7,09 ± 4,76	5,56 ± 1,33*	4,68 ± 2,94	3,41 ± 1,78	14,54 ± 2,28*	10,23 ± 1,66*
1b	33,98 ± 0,87*	6,68 ± 5,38	5,34 ± 2,15	2,96 ± 1,46	1,87 ± 1,55	28,49 ± 1,25*	11,47 ± 0,79*
1в	51,21 ± 4,31*	4,94 ± 2,90	0,36 ± 0,36	1,29 ± 7,81	1,11 ± 2,08	19,14 ± 3,30*	11,38 ± 1,11*
1г	23,46 ± 1,97	10,59 ± 6,65	6,32 ± 2,07*	8,93 ± 3,76*	4,46 ± 1,16*	35,26 ± 2,28*	5,48 ± 2,36
2a	22,35 ± 2,02	0,49 ± 0,49	0,17 ± 0,26	8,21 ± 9,48	1,18 ± 1,23	16,76 ± 0,94*	9,88 ± 0,85*
2b	...	6,81 ± 4,97	2,64 ± 1,27	24,12 ± 11,60	10,24 ± 2,72*	14,20 ± 2,15*	0,88 ± 1,68
2в	41,33 ± 2,73*	4,60 ± 2,67	2,69 ± 2,51	6,72 ± 4,03	2,25 ± 0,56*	24,55 ± 2,08*	14,50 ± 1,37*
2д	41,35 ± 1,46*	7,76 ± 5,49	3,61 ± 1,57	16,24 ± 5,54*	3,02 ± 2,26	3,58 ± 3,56	7,25 ± 2,07
2e	44,43 ± 3,57*	0,44 ± 0,44	0,78 ± 0,75	2,52 ± 8,08	5,69 ± 14,83	10,02 ± 0,22*	19,75 ± 4,19*
Ацетилсалициловая кислота	52,06 ± 4,20*
CP-316819	...	38,11 ± 2,51*	32,56 ± 1,57*
Вилдаглиптин	96,78 ± 1,25*	96,16 ± 2,59*
U-50.488
Аминогуанидин	57,83 ± 0,58*	6,01 ± 2,12*

* Достоверно по отношению к контролю, U критерий Манна – Уитни (p < 0,05).

Таблица 4
Зависимость антиагрегантного эффекта вещества **1в** и ацетилсалициловой кислоты от концентрации ($n = 6$)

Δ% Ингибирования агрегации тромбоцитов		IC ₅₀ , М	
Веществом 1в в концентрации:			
4 · 10 ⁻⁴ М	2 · 10 ⁻⁴ М	5 · 10 ⁻⁵ М	
62,12 ± 2,64*	44,61 ± 8,01*	37,31 ± 6,73*	2,4 · 10 ⁻⁴
Ацетилсалициловой кислотой в концентрации:			
10 ⁻⁴ М	10 ⁻⁵ М	10 ⁻⁶ М	
52,06 ± 4,2*	20,8 ± 3,5*	4,6 ± 1,7	1,04 · 10 ⁻⁴

* Достоверно по отношению к контролю, *U* критерий Манна — Уитни ($p < 0,05$).

IC₅₀ — концентрация вещества, вызывающая снижение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 50 %.

воздействии инфракрасным излучением на кожную поверхность дистальной трети хвоста животного), с помощью прибора “Tail-flickanalgesia-meter” (Ugo-Basile, Италия).

Исследуемые соединения вводили внутривенно в изотонических дозах эталонному препарату — тартрату буторфаноло (ОАО “Московская фармацевтическая фабрика”, Россия) — агонисту каппа- и парциальному агонисту/антагонисту мю-опиоидных рецепторов (1 мг/кг) за 30 мин до эксперимента. Контрольным животным инъецировался эквивалентный объем дистиллированной воды. Латентный период (время избавления от болевого раздражителя) реакции отдергивания хвоста регистрировали в секундах. Максимальное время экспозиции — 15 с расценивали как 100 % анальгезию. Об уровне анальгетического эффекта судили по достоверному увеличению латентного периода после введения веществ по сравнению с контрольной группой. Данные обрабатывали статистически с использованием непараметрического метода сравнения независимых групп Манна — Уитни.

Таблица 5
Влияние изученных соединений **1** и **2** (10⁻⁴ М) на активацию тромбоцитов кролика (агонистическая активность по отношению к каппа-опиоидным рецепторам) ($M \pm m$)

Соединение (число проб)	Активация каппа-опиоидных рецепторов, Δ%
1а ($n = 6$)	7,62 ± 0,43*
1б ($n = 6$)	0
1в ($n = 6$)	0
1г ($n = 6$)	6,02 ± 0,28*
2а ($n = 6$)	0
2б ($n = 6$)	0
2в ($n = 6$)	0
2д ($n = 6$)	0
2е ($n = 6$)	0
U-50.488 ($n = 6$) (вещество сравнения)	22,8 ± 1,6

* Достоверно по отношению к веществу сравнения, *t*-критерий Стьюдента ($p \leq 0,05$).

Таблица 6
Влияние соединений **1** и **2** при внутривенном введении в дозе 1 мг/кг на величину болевого порога в тесте tail-flick (сфокусированный пучок)

Соединение (количество животных в группе)	Латентный период, с
Контроль ($n = 6$)	2,7 ± 0,3
1а ($n = 6$)	8 ± 0,8*
1б ($n = 6$)	3,7 ± 0,3
1в ($n = 6$)	3,4 ± 0,13
1г ($n = 6$)	7 ± 1,9*
2а ($n = 6$)	4,4 ± 0,5*
2б ($n = 6$)	3 ± 0,3
2в ($n = 6$)	2,4 ± 0,18
2д ($n = 6$)	3,1 ± 0,4
2е ($n = 6$)	2,9 ± 0,4
Буторфанол ($n = 6$)	9,8 ± 1,1*

* Достоверно по отношению к контролю, *U*-критерий Манна — Уитни ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Изученные соединения оказали антиагрегантное действие разной степени выраженности. При этом вещество **1в**, содержащее в своей структуре трифторметилфенильный заместитель, было сопоставимо по активности с препаратом сравнения ацетилсалициловой кислотой (табл. 4). Соединения **2е**, **2в**, **2д**, имеющие в структуре трифторметильные заместители, незначительно уступали препарату сравнения, а соединения **1а** и **1г** уступали по активности ацетилсалициловой кислоте в 2,6 и 2,2 раза соответственно. Для расчета IC₅₀ была изучена дозозависимая активность препарата сравнения и наиболее активного соединения **1в**. По данному показателю ацетилсалициловая кислота превосходила изученное соединение в 2,3 раза (табл. 4).

По способности ингибировать дипептидилпептидазу-4 (ДПП-4) все изученные соединения значительно уступали препарату сравнения вилдаглиптину. Наиболее активный в отношении ДПП-4 имидазо[1,2-*a*]бензимидазол **2б** в концентрации 10⁻⁴ М был в 4 раза менее эффективен, чем препарат сравнения.

В отношении гликогенфосфорилазы (ГФ) соединения **1** и **2** не проявили статистически значимой ГФ-ингибиторной активности.

При изучении антигликирующей активности показано, что все изученные вещества уступали веществу сравнения аминогуанидину по способности подавлять неферментативное гликозилирование БСА *in vitro*. Однако соединения **1б** и **1г**, которые содержат в своей структуре пиперидиновый и диметиламиноновый радикалы соответственно, оказали умеренный эффект. Остальные соединения проявили низкий уровень антигликирующей активности (табл. 3).

При оценке каппа-опиоидной агонистической активности установлено, что *in vitro* соединения **1а** и **1г** вызывали α BNI-обратимую активацию тромбоцитов. Вместе с тем уступали высокоселективному кап-

па-агонисту U 50,488 в 2,7 раза (табл. 5). В тесте “отдергивания хвоста” *in vivo* указанные вещества статистически значимо и налоксонообратимо увеличивали порог ноцицептивной реакции в 3 и 2,6 раза соответственно. Соединения **1a** и **1g** проявляли обезболивающую активность, сходную с таковой буторфанолола (табл. 6). Остальные вещества оказались неэффективны *in vitro* и *in vivo*. Совокупность полученных результатов дает основание полагать, что каппа-агонистическая и обезболивающая активность изученных веществ определяется наличием 4-трифторметилфенил- и диалкиламиноалкильного заместителей в положении 2 и 9 трицикла соответственно.

Таким образом, впервые получены и описаны производные 2-(4-трифторметилфенил)- и 2-трифторметил-9-диалкиламиноалкилимидазо[1,2-*a*]бензимидазола. Установлено, что соединение **1b** обладает антиагрегантной активностью, уступающей ацетилсалициловой кислоте в 2,3 раза. Соединения **1a** и **1g** проявляют каппа-агонистическую и обезболивающую активность, сходную с буторфанололом. Вместе с тем новые соединения не оказывают значимого влияния на активность дипептидилпептидазы типа 4, гликогенфосфоорилазы и процесс образования конечных продуктов гликирования.

Работа частично финансировалась в рамках проектной части государственного задания в сфере научной деятельности, проект № 4.196.2014/К.

Исследование фармакологических свойств синтезированных соединений проведено под руководством А. А. Спасова за счет средств гранта Российского научного фонда (проект № 14-25-00139).

ЛИТЕРАТУРА

1. D. O'Hagan, *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 308 – 319 (2007).
2. Г. Н. Липунова, Э. В. Носова, В. Н. Чарушин, *Химия гетероцикл. соедин.*, № 12, 1825 – 1851 (2013).
3. E. L. Luzina, A. V. Popov, *J. Fluorine Chem.*, **168**, 121 – 127 (2014).
4. C. Isanbor, D. O'Hagan, *J. Fluorine Chem.*, **127**, 303 (2006).
5. В. А. Анисимова, И. Е. Толпыгин, В. И. Минкин и др., Патент РФ 2290404; *Бюл. изобрет.*, № 36 (2006).
6. В. А. Анисимова, А. А. Спасов, О. Ю. Гречко и др., Патент РФ 2412187; *Бюл. изобрет.*, № 5 (2011).
7. В. А. Анисимова, И. Е. Толпыгин, О. Ю. Гречко и др., Патент РФ 2413512; *Бюл. изобрет.*, № 7(2011).

8. А. А. Спасов, О. Ю. Гречко, П. М. Васильев, В. А. Анисимова, *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, **8**, 52 – 57 (2011).
9. А. П. Галенко-Ярошевский, В. А. Анисимова, В. И. Минкин и др., Патент РФ 2313341; *Бюл. изобрет.*, № 36 (2012).
10. В. А. Анисимова, А. П. Галенко-Ярошевский, В. И. Минкин, И. Е. Толпыгин, Патент РФ 2311416; *Бюл. изобрет.*, № 33 (2007).
11. А. Ф. Кучерявенко, О. А. Салазникова, В. С. Сиротенко и др., *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, № 8, 9 – 13 (2015).
12. А. А. Спасов, В. С. Сиротенко, К. А. Гайдукова и др., *Вестник ВолгГМУ*, № 1, 56 – 59 (2016).
13. В. А. Анисимова, О. Н. Жуковская, А. А. Спасов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(10), 11 – 14 (2015); *Pharm.-Chem. J.*, **49**(10), January, 653 – 656 (2016).
14. В. А. Анисимова, А. А. Спасов, О. В. Островский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **36**(12), 3 – 7 (2002); *Pharm. Chem. J.*, **36**(12), 637 – 642 (2002).
15. X. Han, S. S. Pin, K. Burrisetal, *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **15**, 4029 – 4032 (2005).
16. G. Nenajdenko, A. V. Shastin, E. S. Balenkova, G. Haufe, *Synthesis*, **13**, 2249 – 2259 (2009).
17. B. Xu, BoPeng, B. Caietal, *Advanced Synthesis Catalysis*, **358**(4), 653 – 660 (2016).
18. M. Selvaraju, T-YYe, Ch-H. Lietall, *Chem. Commun.*, **52**, 6621 – 6624 (2016).
19. А. М. Симонов, А. А. Белоус, В. А. Анисимова, С. В. Ивановская, *Хим.-фарм. журн.*, **3**(1), 7 – 10 (1969); *Pharm. Chem. J.*, **3**(1), 4 – 6 (1969).
20. В. А. Анисимова, А. А. Спасов, В. А. Косолапов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **39**(9), 26 – 32 (2005); *Pharm. Chem. J.*, **39**(9), 476 – 483 (2005).
21. Т. А. Кузьменко, Л. Н. Диваева, А. С. Морковник и др., *Ж. орган. химии*, **50**(5), 727 – 735 (2014).
22. E. Abignento, P. de Carrariis, R. Patscotetal, *J. Heterocyclic Chem.*, **23**, 1031 – 1034 (1986).
23. M. Velazquer, H. Salgado-Zamora, C. Perezetal, *J. Mol. Structure*, **979**, 56 – 61 (2010).
24. З. А. Габбасов, Е. Г. Попов, И. Ю. Гаврилова и др., *Лаб. дело*, **10**, 15 (1989).
25. V. Matheeuessen, A. M. Lambeir, W. Jungraithmayr, et al., *Clin. Chim. Acta.*, **413**(3 – 4), 456 – 462 (2012).
26. J. L. Hedrick, E. H. Fischer, *Biochemistry*, **4**(7), 1337 – 1343 (1965).
27. S. W. Suh, J. H. Bergher, C. M. Anderson, et al., *J. Pharmacol. Experim. Therap.*, **321**(1), 45 – 50 (2007).
28. A. Jedsadayamata, *Naresuan Univer. J.*, **13**(2), 35 – 41 (2005).
29. P. J. Thornalley, *Archives Biochem. Biophys.*, **419**, 31 – 40 (2003).
30. В. А. Люсов, Ю. Б. Белоусов, *Кардиология*, **8**, 459 – 461 (1971).
31. Э. Ф. Деркачев, И. В. Миндукшев, А. И. Кривченко, А. А. Крашениников, Патент РФ 2108579; *Бюл. изобрет.*, № 10 (1998).

Поступила 16.09.16

SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF TRIFLUOROMETHYL-CONTAINING IMIDAZO[1,2-*a*]BENZIMIDAZOLES

O. N. Zhukovskaya¹, A. A. Spasov^{2,3}, T. A. Kuz'menko¹, A. S. Morkovnik¹, A. F. Kucheryavenko², V. A. Anisimova¹, O. A. Salaznikova², K. A. Gaidukova², V. A. Kuznetsova², D. A. Babkov², O. Yu. Grechko², N. V. Eliseeva², and A. I. Rashchenko²

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

² Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131 Russia

³ Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400131 Russia

* e-mail: zhukowskaia.ol@yandex.ru

A series of 2-(4-trifluoromethylphenyl)- and 2-trifluoromethyl-9-dialkylaminoalkyl-imidazo[1,2-*a*]benzimidazoles were synthesized for the first time via reactions of 2-amino-1-dialkylaminoalkylbenzimidazoles with [(4-trifluoromethyl)phenyl]ethanone or 1-bromo-3,3,3-trifluoroacetone. The obtained compounds were tested for (i) analgesic and antiplatelet properties, (ii) glycogen phosphorylase- and dipeptidyl-4-peptidase inhibitory activity, (iii) *in vitro* glycation of bovine serum albumin.

Keywords: 2-(4-trifluoromethylphenyl)benzimidazoles; 2-trifluoromethylimidazo[1,2-*a*]benzimidazoles; antiplatelet activity; analgesic activity; antidiabetic properties.