

А. Б. Томчин, Л. В. Пастушенко, А. Л. Пастушенко, В. И. Линьков,
Э. Г. Беличева, В. Е. Иванов

ПРОИЗВОДНЫЕ ТИОМОЧЕВИНЫ И ТИОСЕМИКАРБАЗИДА. СТРОЕНИЕ, ПРЕВРАЩЕНИЯ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ. 10. СИНТЕЗ, ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО АНТИГИПОКСАНТА И АНТИСУРДИТАНТА ТОМПАСЛИНА

ГОУДПО Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования;
ФГОУВПО Санкт-Петербургский государственный университет

Фармакологическое исследование нового производного триазиноиндола — томпаслина (3-(2-морфолиноэтилтио)-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола дигидрохлорида моногидрата) показало, что он проявляет высокую антигипоксическую активность, причем она не является видоспецифичной. Препарат обладает сопоставимой с гутимином активностью при гипоксической и циркуляторной гипоксии, но превосходит его на модели гипоксии “нагрузки”. Высокая эффективность защитного влияния томпаслина на функцию звукового анализатора позволяет рассматривать этот препарат как перспективное специфическое антисурдитантное средство при острой сенсоневральной тугоухости. Разработан препаративный способ синтеза препарата фармакопейного качества, а также методы его качественного и количественного определения в субстанции и в растворе, в том числе в биологических жидкостях, удовлетворяющие фармакопейным требованиям, предложена лекарственная форма раствора для внутривенных инъекций. В отношении технологии получения томпаслин доступнее, чем до сих пор не внедренные в производство антигипоксанты гутимин и амтизол.

Настоящая работа посвящена разработанному нами первому отечественному антисурдитанту — томпаслину¹, внедряемому в медицинскую практику. Препарат является 3-(2-морфолиноэтилтио)-1,2,4-триазино[5,6-*b*] индола дигидрохлорида моногидратом (I), он обладает противогипоксической и противовоспалительной активностью [1, 2].

I оказался одним из наиболее эффективных антигипоксантов в ряду производных триазиноиндола [3], влияющих на ионный трансмембранный транспорт [4]. Несмотря на то, что I не является самым активным из них, препарат имеет ряд положительных отличий, в том числе высокий терапевтический индекс, достаточную растворимость в воде и технологическую доступность. Было установлено, что I обладает широким спектром фармакологической активности и превосходит в этом отношении гутимин и амтизол. Сведения о некоторых видах действия I — анальгетическом, противоаритмическом, антиагрегантном, оптимизирующем нейроэндокринные реакции в условиях стресса и гипертермии — описаны в наших предыдущих сообщениях (см. свойства соединения под шифром Т-468) [5 – 7]. Особо следует выделить способность I устранять в короткий срок (4 – 5 дней) остро возникшую сенсоневральную тугоухость и глухоту [2].

Целью настоящей работы явилось исследование антигипоксического действия I и его протективного влияния на слуховой анализатор. Нами проведено экспериментальное изучение защитного действия I на слу-

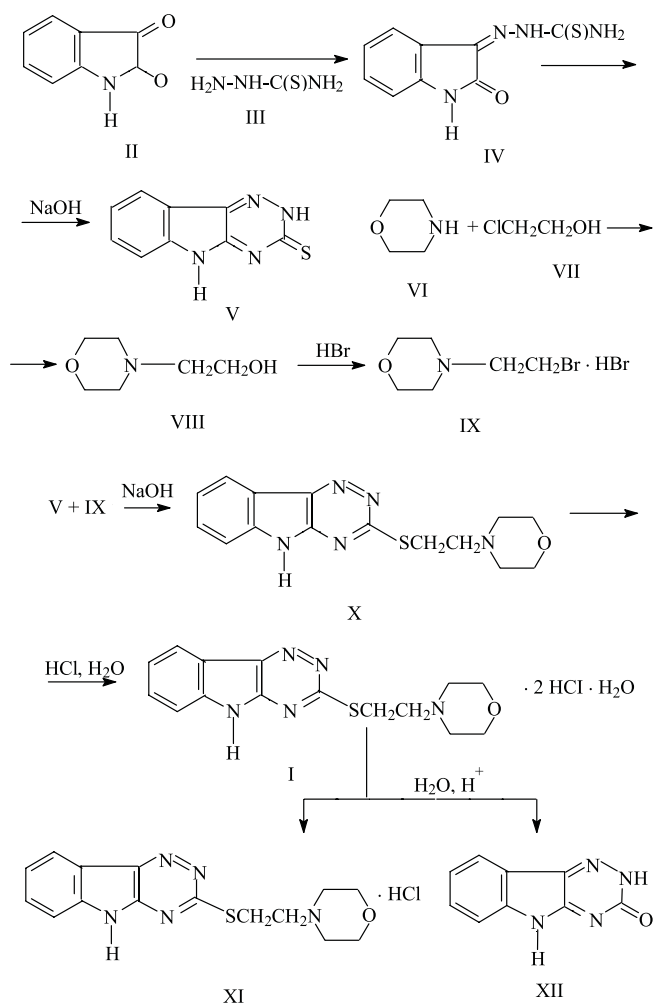
ховую функцию при различных патологических состояниях. Несмотря на большое число работ, посвященных вопросам этиологии, характеру и топике поражения в слуховой системе, патогенетические средства для лечения острой сенсоневральной тугоухости отсутствуют. В связи с тем, что при сосудистых, инфекционных, токсических и других патологических воздействиях на слуховой анализатор основным звеном патогенеза развития сенсоневральной тугоухости является внутрилитковая гипоксия [8, 9], наиболее приемлемым для предотвращения функциональных дегенеративных изменений в структурах периферического отдела слухового анализатора при острой сенсоневральной тугоухости является применение антигипоксантов.

В связи с перспективой применения препарата в качестве средства для лечения острой сенсоневральной тугоухости мы разработали метод получения I фармакопейного качества, а также выяснили его физико-химические свойства, влияющие на выбор состава инъекционной лекарственной формы. Синтез I осуществлен по следующей схеме.

Конденсацией изагина (II) с тиосемикарбазидом (III) получают изатин-3-тиосемикарбазон (IV), который при нагревании с водным раствором гидроксида натрия циклизуется в 2,3-дигидро-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индол-3-тион (V). Удалось уточнить прежние методики [10 – 12] и довести выходы на ряде стадий до близких к количественным. Замена щелочи карбонатом калия по методике [13] приводит к снижению выхода и нецелесообразна. Рассматриваемая циклизация вследствие размыкания индольного кольца изагина в незначительной степени сопровождается образо-

¹ Это название, образованное из фамилий авторов, утверждено комиссией Фармкомитета МЗ РФ в 2007 г. До этого препарат испытывался под названием тримин, а затем трисан.

Схема



ванием побочного продукта реакции — 2,3,4,5-тетрагидро-6-(2-аминофенил)-1,2,4-триазин-3-тиона [14], который отделяется благодаря его более высокой растворимости.

При конденсации морфолина (VI) с этиленхлоргидрином (VII) получают 4-морфолиноэтанол (VIII) [15], который действием бромистоводородной кислоты превращают в гидробромид 2-морфолиноэтилбромида (IX) [16]. Последний взаимодействует с тионом (V) в щелочной среде и образует основание I — (X), причем соединение (IX) можно использовать в реакционном растворе без его выделения. Основание (X) растворяют при нагревании в смеси изопропилового спирта, соляной кислоты и воды, и из этого раствора при охлаждении кристаллизуется дигидрохлорид моногидрат (I). I очищают до фармакопейного перекристаллизацией из смеси тех же растворителей. Эта форма препарата получается при высушивании на воздухе, и именно ее необходимо использовать в качестве фармакопейной субстанции. При длительном нагревании до 115 °C I отщепляет воду и 1 молекулу хлористого водорода и превращается в гигроскопичный моногидрохлорид (XI).

При очистке I от примеси исходного тиона (V) мы использовали различие в их кислотно-основных свойствах. Как и следовало ожидать, соединение V легко растворяется в щелочах, тогда как продукт его аминоалкилирования X — в кислотах. Состав и строение I подтверждаются данными ПМР и УФ-спектров, а также результатами потенциометрического титрования щелочью. Положение и интенсивность полос поглощения в УФ-спектре его водного раствора характерно для 3-S-аминоалкильных производных 1,2,4-триазино[5,6-b] индола [3]. Кроме того, строение основания X подтверждено масс-спектром, в котором содержится пик молекулярного иона.

При потенциометрическом титровании щелочью I ведет себя как двухосновная кислота, причем ионизация по первой ступени осуществляется по типу сильных электролитов, а для второй ступени найдена величина pK_a $6,00 \pm 0,05$ при 25 °C, т. е. основность соединения X мала. I легко растворим в воде, но величина рН его 1 % раствора составляет от 1,5 до 2,0, что приведет к местнораздражающему эффекту. Для того чтобы повысить величину рН инъекционного раствора, необходимо добавление щелочи. Однако в этом случае растворимость I уменьшается. При $pH > 4,6$ наблюдается выпадение осадка вследствие образования малорастворимого моногидрохлорида (XI). Отметим, что основание X совсем не растворяется в воде. Таким образом, оказалось, что получить инъекционную лекарственную форму I с величиной $pH > 5$ невозможно.

В результате варьирования состава 1 % раствора I с добавлением различных вспомогательных веществ, разрешенных для применения при изготовлении парентеральных препаратов, мы нашли, что наилучшая растворимость и устойчивость растворов при хранении достигается для смесей, содержащих лимонную кислоту: I — лимонная кислота — поливинилпирролидон, 1:1:1 с добавлением 4 % раствора гидроксида натрия до рН 4,8 и смесь I — лимонная кислота — N-метил-D-глюкамин, 1:1: 2,36 (рН 4,8). Попытка получить стерильный лиофилизированный порошок для инъекций не увенчалась успехом, так как даже для указанных выше смесей после лиофильной сушки наблюдалась опалесценция раствора. Однако нам удалось получить 0,5 % раствор I для инъекций. Совместно с Е. И. Саканян мы установили, что для этой цели пригоден простой состав растворителя, полученный добавлением к раствору 0,5 г препарата в 95 мл воды 0,6 г хлорида натрия и 5 мл 0,1 М гидроксида натрия и имеющий величину рН от 4,5 до 5,0. Предпочтительна стерилизация указанного раствора методом асептической фильтрации, обеспечивающая стабильность при хранении. После стерилизации при 100 °C этот раствор сохраняет прозрачность, но его устойчивость при хранении не проверялась. Стерилизация при 100 °C нежелательна, так как предварительные данные свидетельствуют о возможности частичного разложения I, причем этому процессу способствует повышение кислотности среды. Так, при стерилизации 1 % раствора с величиной рН 3,5, забуференного ацетатом натрия, на-

блюдалось слабое помутнение раствора. Фильтрацией удалось отделить очень малое количество продукта превращения, который по данным масс-спектра оказался идентичным 2,3-дигидро-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индолону-3 (XII) [17]. Таким образом, при определенных условиях томпаплин может подвергаться в водном растворе гидролизу с расщеплением связи между атомом углерода C³ триазинового кольца и атомом серы боковой цепи.

Величины коэффициентов распределения I в системе октанол — фосфатный буферный раствор (рН 7,36) $\lg P_{\text{каж}}$ и $\lg P$ составляют 2,58 и 2,63, что свидетельствует о значительной липофильности препарата и соответствует области липофильности производных триазиноиндола, оптимальной для проявления антигипоксического действия [3].

Существенно, что томпаплин в отношении технологии получения доступнее, чем известные антигипоксиканты гутимин и амтизол, до сих пор не внедренные в производство, так как его синтез не требует использования токсичного газообразного сероводорода и не сопровождается его образованием.

Наряду со способом получения нами разработаны также методы количественного и качественного анализа I, необходимые для разработки ФС на препарат — пробы на подлинность, специфические примеси, примеси используемых в синтезе органических растворителей и способ количественного определения. Пробы на подлинность включают в себя реакции на алкилсульфидную группу и триазиноиндольное ядро. Кроме того, одна из них основана на том, что при добавлении щелочи к водному раствору препарата вследствие превращения дигидрохлорида I в основание X вначале выпадает осадок, который затем растворяется в результате ионизации с отрывом протона от индольного атома азота. Для количественного определения I в субстанции проводится титрование хлорной кислотой в искусственном ангидриде в присутствии муравьиной кислоты, а в растворе для инъекций используют спектрофотометрическое определение при длине волны 344 нм.

Экспериментальная химическая часть

Для анализа реакционных смесей и идентификации продуктов реакции мы использовали данные тонкослойной хроматографии, элементного анализа, потенциометрического титрования, ПМР, УФ- и масс-спектров. Однородность всех соединений контролировали, наряду с другими методами ТСХ. Методики измерения спектров, констант ионизации pK_a , эквивалентных масс (потенциометрическое титрование) и коэффициентов распределения приведены ранее [3]. Спектр ПМР I снят на приборе Tesla BS 487 С.

Изатин-3-тиосемикарбазон (IV). Смешивают 46,5 мл конц. HCl с 422 мл воды, прибавляют при перемешивании 42,3 г (0,464 моль) тиосемикарбазида (III) и продолжают перемешивание до полного растворения (\approx 30 мин). К смеси 65 г (0,442 моль) изатина (II) и 2790 мл воды при слабом кипении прибавляют в

течение 30 мин приготовленный раствор гидрохлорида тиосемикарбазида и продолжают нагревание 20 мин. Реакция сопровождается образованием пены. Реакционную массу охлаждают до 90 °С, осадок отфильтровывают, промывают горячей (90 °С) водой (3 × 65 мл) и сушат при 110 °С. Получают 94,6 г (97,2 %) IV, золотисто-желтые ватообразные кристаллы, т. пл. 245 ± 2 °С [10].

2,3-Дигидро-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индол-3-тион (V). Смешивают 436 г (1,98 моль) IV с 2800 мл 1 н. водного раствора гидроксида натрия и при нагревании на глицериновой бане кипятят 3 ч с обратным холодильником, прибавляют 870 мл воды (из расчета 2 л воды на 1 кг IV), охлаждают до 50 °С и при эффективном перемешивании прибавляют по каплям 2,5 М соляную кислоту до рН 6 по универсальной индикаторной бумаге (\approx 1040 мл). Снова нагревают суспензию до кипения, осадок отфильтровывают, промывают кипящей водой (2 × 1200 мл), кипящим изопропиловым спиртом (2 × 1200 мл) и сушат вначале на воздухе, а затем при 105 °С. Получают 369,9 г (92,4 %) V, мелкие желтые кристаллы, т. пл. 353 – 354 °С [11]. Для аналитических целей пробу вещества очищают перекристаллизацией из диметилформамида. Масс-спектр, m/z (I, %): $[M]^+$ 202 (100), $[M-N_2]^+$ 174 (30,6), $[M-N_2H-HCN]^+$ 146 (11), $[M-N_2-S]^+$ 142 (17), $[M-N_2H-HCN-CN]^+$ 120 (8), $[M-N_2H-HCN-HS]^+$ 113 (33,5), $[M-N_2-S-H_2NCN]^+$ 100 (14).

4-Морфолиноэтанол (VIII). Смешивают 700 мл (8,035 моль) морфолина и 1400 мл бензола, нагревают до 60 °С, прибавляют в течение 20 мин 350 мл (5,252 моль) этиленхлоргидрина, перемешивают при этой температуре 1 ч и кипятят 8 ч с обратным холодильником. После охлаждения до 18 °С осадок гидрохлорида морфолина отфильтровывают и промывают бензолом (2 × 105 мл). Фильтрат и промывную жидкость объединяют, отгоняют бензол под вакуумом и остаток подвергают фракционированной вакуум-перегонке. Собирают первую фракцию, т. кип. до 105 °С/13 мм рт. ст. и основную фракцию, т. кип. 105 – 116 °С/13 мм рт. ст. В результате повторной перегонки получают 434 г VIII, бесцветная жидкость, т. кип. 107 – 110 °С/13 мм рт. ст., n_D^{20} 1,4760 – 1,4780 [15].

Гидробромид 2-морфолиноэтилбромида (IX). Синтез проводят по аналогии с получением 2-бромэтиламина [18]. а) К 300 мл (2,60 моль) охлажденной до 0 °С 47,5 % бромистоводородной кислоты прибавляют по каплям в течение 20 – 30 мин 100 мл (0,816 моль) охлажденного до 0 °С морфолиноэтанола (VIII). Колбу соединяют с дефлегматором и прямым холодильником и при нагревании на глицериновой бане (температура бани 140 °С) отгоняют 70 мл бромистоводородной кислоты. Затем уменьшают температуру бани (до \approx 110 °С) так, чтобы отгонка прекратилась, и дефлегматор служил бы обратным холодильником. Такое кипение продолжают 1 ч, после чего отгоняют еще 30 мл дистиллата. Таким же образом, чередуя отгонку и нагревание в течение 1 ч, отгоняют 30, 20 и 10 мл дистиллата. Нагревают 4 ч и отгоняют

еще 70 мл дистиллата. Остаток, темную густую жидкость, охлаждают до 70 °С и выливают в ступку. После охлаждения вещество затвердевает с образованием бесцветной кристаллической массы. Последнюю растирают в порошок с добавлением 1 л ацетона, тщательно перемешивают и оставляют на ночь в холодильнике при –10 °С. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают охлажденным ацетоном до удаления коричневого оттенка (5 × 30 мл) и сушат без доступа света в вакууме над хлоридом кальция. Получают 181,7 г (81 %) соединения IX, серовато-белые кристаллы, т. пл. 212 °С, которые можно использовать в последующем синтезе без очистки. Для аналитических целей его очищают перекристаллизацией из этилового (9,5 мл/г) или пропилового спирта (23 мл/г). Выход при перекристаллизации 60,8 %. Получают крупные блестящие бесцветные кристаллы, т. пл. 212 – 213 °С [16].

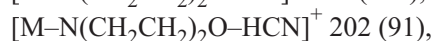
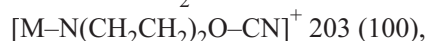
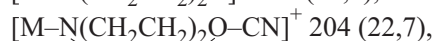
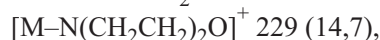
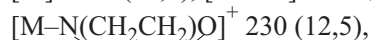
б) К 1908 мл (13,02 моль) 40 % бромистоводородной кислоты, охлажденной до 15 °С, поддерживая эту температуру наружным охлаждением, прибавляют 500 мл (4,079 моль) VIII за 20 – 30 мин. Реакционную массу нагревают на глицериновой бане до кипения и отгоняют воду с бромистоводородной кислотой при нагревании в течение 2 ч до 116 °С. В течение следующих 6 ч поднимают температуру массы до 126 °С с одновременной отгонкой бромистоводородной кислоты. После этого отгоняют остатки кислоты, поднимая температуру массы до 130 °С, до прекращения образования дистиллата. Всего отгоняется 1330 мл дистиллата. По окончании отгонки охлаждают массу до 100 °С, постепенно прибавляют 2650 мл воды и перемешивают до полного растворения осадка (~ 30 мин). Раствор охлаждают до 25 °С и экстрагируют в течение 15 мин *n*-бутиловым спиртом (1325 мл). Выдерживают 20 мин, слои разделяют, нижний водный слой, содержащий соединение (IX), перемешивают 15 мин с 18 г активированного угля и фильтруют. Получают 3800 мл бесцветного водного раствора, содержащего 1121,5 г соединения (IX) и 26 – 46 г/л бромистоводородной кислоты. Таким образом, выход IX по отношению к морфолиноэтанолу (VIII) близок к количественному. Указанное содержание основного вещества и остаточной бромистоводородной кислоты в растворе определяют титрованием.

К 20 мл дистиллированной воды прибавляют 1 мл исследуемого раствора, добавляют 2 капли раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до желтого окрашивания. Затем добавляют 2 капли раствора фенолфталеина и титруют пробу до розовой окраски. Первая точка эквивалентности соответствует нейтрализации свободной бромистоводородной кислоты, а вторая — превращению гидробромиды (IX) в свободное основание. УФ-спектр полученного раствора (при разбавлении до 3,5 %) не отличается по положению максимума поглощения (220 нм) от спектра раствора соединения (IX), полученного по методике а. Указанный раствор можно ис-

пользовать в последующем синтезе без выделения соединения (IX).

3-(2-Морфолиноэтилтио)-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индол (X). а) К раствору 447 г (2,213 моль) V в 5533 мл 1 М водного раствора гидроксида натрия при перемешивании постепенно (за ≈ 30 мин) прибавляют раствор 662,9 г (2,411 моль) IX в 1830 мл воды. Образовавшуюся суспензию перемешивают при комнатной температуре в течение 3 – 4,5 сут, прибавляют 7360 мл воды, перемешивают, осадок отфильтровывают и для удаления примеси непрореагировавшего соединения V промывают 0,05 М раствором гидроксида натрия (3 × 430 мл), затем водой (2 × 430 мл) и сушат в вакууме. Получают 523 г (75 %) соединения X, которое можно использовать для получения I без предварительной очистки. Для аналитических целей основание X очищают переосаждением из раствора в кислоте щелочью с добавлением активированного угля, перекристаллизацией из смеси ДМФА с ацетонитрилом, 1:2,5 (32 мл/г) или лучше из ДМФА. Мелкие желтые кристаллы, т. пл. 235 °С. Масс-спектр, *m/z* (I, %):²

$$[M]^+ 315 (10,2), [M-HS]^+ 282 (5,7),$$



б) Растворяют 17,1 г (0,4275 моль) гидроксида натрия в 360 мл воды. Количество гидроксида натрия берут из расчета 0,48 г на 1 г V с добавлением дополнительного количества для нейтрализации бромистоводородной кислоты в растворе IX. К раствору щелочи при 20 – 25 °С прибавляют 30 г (0,1483 г) V и перемешивают до полного растворения (≈ 10 мин). Затем постепенно добавляют 154 мл раствора IX, полученного по методике б (см. выше) и содержащего 45,34 г (0,1649 моль) IX и 5,53 г (0,0683 моль) бромистоводородной кислоты. При этом температуру регулируют скоростью добавления таким образом, чтобы она не превышала 30 °С. Реакционную массу выдерживают при 18 – 20 °С в течение 1 сут., прибавляют 1 л воды, перемешивают 15 мин, осадок отфильтровывают, промывают водой (2 × 30 мл) и сушат. Получают 32,07 г (68,6 %) X.

Дигидрохлорид моногидрат 3-(2-морфолиноэтилтио)-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индола (I). Смешивают 384,8 г (1,222 моль) X с 739 мл изопропилового спирта, 569 мл воды и 262 мл конц. HCl. Нагревают до кипения, быстро фильтруют в горячем состоянии, фильтрат охлаждают при перемешивании до 20 °С и вы-

² В приведенной области спектра за 100 % принята интенсивность пика с *m/z* 203. В области меньших масс более интенсивен пик с *m/z* 113.

держивают в холодильнике в течение 24 ч при непрерывном перемешивании. Осадок отфильтровывают, промывают изопропиловым спиртом (120 мл), ацетоном (120 мл) и сушат на воздухе. Получают 389 г (87 %) I. Смешивают 134,6 г вещества с 460 мл смеси изопропилового спирта с 0,5 н. соляной кислотой (1:1 об.), нагревают до кипения, прибавляют 2 г активированного угля, продолжают нагревание 1 – 2 мин и быстро фильтруют в горячем состоянии. Фильтрат охлаждают при перемешивании, как указано выше. Осадок отфильтровывают, промывают изопропиловым спиртом, затем ацетоном (по 45 мл) и сушат на воздухе до постоянной массы. Получают 121,8 г фармакопейного (I) в виде мелких блестящих лимонно-желтых кристаллов, т. пл. от 236 до 241 °С (с разложением). Вещество легко растворимо в воде, мало растворимо в 95 % спирте, практически нерастворимо в эфире и хлороформе. Раствор 0,1 г I в 10 мл воды прозрачен. Найдено: М 406,8 (потенциметрическое титрование 0,017 М раствора I в 70 % водном спирте 1 М раствором гидроксида калия) [1]. Вычислено: М 406,3. При высушивании 1 г соединения I при 100 °С до постоянной массы потеря в массе составляет 4,5 % (вычислено 4,4 %). Спектр ПМР в D₂O, 100 МГц, δ, м. д.: 6,97 – 7,52 (м 4 Н, Н аром.), 3,92 – 4,14 (м 4 Н, CH₂O), 3,37 – 3,77 (м 8 Н, CH₂N, CH₂S). УФ-спектр 0,001 % раствора в воде: λ_{макс.}, нм (lg ε): 264 (4,52), 341 (3,95).

Для разработки ФС предложены характерные качественные реакции в качестве фармакопейных проб на подлинность I. 0,1 г вещества I растворяют в 1 мл воды и прибавляют 1 мл раствора, полученного смешением 1 н. раствора едкого натра и раствора нитропруссиды натрия (1:2). После взбалтывания выпадает осадок, раствор окрашивается в голубой цвет. Растворяют 0,02 г вещества I в 1 мл воды и прибавляют 1 мл реактива Драгендорфа; выпадает оранжевый осадок. Растворяют 0,05 г вещества I в 1 мл воды, к полученному раствору бледного зеленовато-желтого цвета прибавляют 0,1 мл 1 М раствора едкого натра; выпадает мелкокристаллический бледно-желтый осадок. Добавляют еще 0,5 мл того же раствора и взбалтывают, при этом все вещество переходит в раствор желтого цвета, более интенсивного по сравнению с цветом исходного раствора.

Разработанная методика ТСХ обеспечивает обнаружение в I до 0,4 % примеси соединения V. 0,05 г препарата растворяют в 0,5 мл воды, прибавляют 2 мл 95 % спирта, 2,5 мл диоксана, 2 капли концентрированного водного раствора аммиака и перемешивают. Микрошприцем наносят 0,01 мл раствора (100 мкг) на линию старта хроматографической пластинки Silufol UV-254 или аналогичной, предварительно промытой указанной ниже смесью растворителей и высушенной. В качестве свидетеля на хроматограмму наносят раствор исходного соединения V в смеси 95 % спирт — концентрированный раствор аммиака, 4:1. Пластинку с нанесенной пробой высушивают на воздухе в течение 5 мин, затем помещают в камеру со смесью растворителей хлороформ — 95 % спирт — концентриро-

ванный раствор аммиака, 10:20:1 и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт растворителя пройдет 12 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры и сушат на воздухе 15 мин. Хроматограмму просматривают в ультрафиолетовом свете при длине волны 254 нм. Кроме пятна томпастина допустимо пятно на старте, принадлежащее хлориду аммония. Величины R_f соединений I и V составляют 0,8 и 0,5 соответственно. Примеси изопропилового спирта и ацетона (до 0,2 % для каждого) удается обнаружить реакцией Бема и Бодендорфа с *m*-нитробензальдегидом в присутствии концентрированной серной кислоты и реакцией с салициловым альдегидом в присутствии едкого кали [19].

Количественное определение содержания основного вещества в фармакопейном продукте I проводят методом неводного титрования. Около 0,1 г препарата (точная навеска) растворяют в 2 мл муравьиной кислоты, прибавляют 25 мл уксусного ангидрида и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до желтого окрашивания с индикатором кристаллическим фиолетовым (0,2 мл). Параллельно проводят контрольный опыт.

2,3-Дигидро-1,2,4-триазино[5,6-*b*]индолон-3 (XII) [17]. К 1 % раствору I прибавляют ацетат натрия до pH 3,5 и нагревают до 100 °С в течение 45 мин в условиях стерилизации. При этом наблюдается слабое помутнение. Осадок отфильтровывают и получают очень малое количество вещества, которое по данным масс-спектра идентично соединению (XII) [17]. Масс-спектр, *m/z* (I, %): [M]⁺ 186 (100), [M-CO]⁺ 158 (6,5), [M-CHO]⁺ 157 (21), [M-NHCO]⁺ 143 (9,8), [M-CHO-HCN]⁺ 130 (19), [M-CHO-2 HCN]⁺ 103 (18).

Экспериментальная биологическая часть

Методы исследования

Фармакологическое исследование I выполнено на 210 мышах, 625 крысах, 24 кроликах и 60 кошках. I вводили в дозах 2 – 128 мг/кг в виде 1 % водного раствора, который был доведен до pH 3,5 добавлением ацетата натрия. Препараты сравнения гутимин и амтизол вводили в дозах 12,5 – 69 и 15 – 25 мг/кг соответственно в виде свежеприготовленных растворов. Животным контрольной группы вводили 0,9 % раствор хлорида натрия или ацетатный буферный раствор. Все перечисленные препараты вводили внутрибрюшинно (преимущественно) или внутривенно.

Результаты всех экспериментов обрабатывали с применением известных статистических методов, значимость различий устанавливали с помощью критерия *t* Стьюдента [20].

Противогипоксическую активность I и препарата сравнения оценивали по увеличению выживаемости животных в условиях различных форм гипоксии: гипобарической, циркуляторной, смешанной гипоксии и гипоксии “нагрузки” [21 – 25]. Методика расчета коэффициента защиты (КЗ) и терапевтического индекса (ТИ) приведена ранее [1].

Острую гипобарическую гипоксию моделировали с использованием барокамеры с приточно-вытяжной вентиляцией на животных 3 видов — 150 мышах, 250 крысах и 24 кроликах [3]. Моделирование гипобарической гипоксии на мышах осуществляли созданием давления в барокамере, эквивалентного подъему на “высоту” 1100 м, на крысах — 1200 м, на кроликах — 10000 м. Экспозиция животных на “высоте” составляла 20 мин. Препараты вводили в дозах 1/20 – 1/10 от ЛД₅₀. I вводили внутривенно и внутрибрюшинно за 10, 30, 60 мин до создания гипоксического состояния в широком диапазоне доз (2 – 128 мг/кг).

Для получения циркуляторной гипоксии применяли модели аноксии миокарда и ишемии головного мозга [22, 23]. Моделирование аноксии миокарда у 120 крыс осуществляли путем остановки дыхания после внутривенного введения 1 % раствора дитилина с последующей регистрацией ЭКГ после последнего агонального вдоха. Ишемию головного мозга моделировали на 145 крысах-самцах при одномоментной, двухсторонней перевязке общих сонных артерий по общепринятой методике под легким эфирным наркозом. I вводили мышам в дозе 64 мг/кг и крысам в дозах 11 и 55 мг/кг внутрибрюшинно трехкратно в течение 1 сут.

В качестве гипоксии “нагрузки” использовали плавание животных (60 мышей, 110 крыс) с грузом, составляющим 7 % массы тела, до истощения [24, 25]. Предварительно за 30 мин вводили I в дозе 55 мг/кг, гутимин в дозе 100 мг/кг.

Изучение активности I в качестве антисурдитанта проводили на моделях сенсоневральной тугоухости (стрептомициновая интоксикация, острая акустическая травма и гипоксическая гипоксия) на половозрелых кошках обоего пола массой 2,5 – 3,0 кг. Под внутрибрюшинным нембуталовым наркозом (40 мг/кг) обнажали слуховую буллу кошки, константовый электрод диаметром 0,1 мм, на конце изогнутый в виде петли, с помощью манипулятора устанавливали на вторичную мембрану круглого окна улитки. С помощью специальной электрофизиологической установки в ответ на короткий звуковой сигнал “щелчок” длительностью 100 мс с мембраны круглого окна улитки кошки в электроэкранированной звукоизолированной камере регистрировали суммарный электрический ответ улитки. При функциональной активности в ответ на звуковое воздействие короткого звукового сигнала длительностью 100 мс интенсивностью от 10 до 80 дБ в улитке происходят электрические явления, которые можно разделить на микрофонный и акционный потенциалы. Микрофонный потенциал (МП) характеризует функцию рецепторных структур улитки. Акционный потенциал (АП) слухового нерва возникает после микрофонного по прошествии определенного латентного периода и представлен первым нервным компонентом (N1), дающим представление о функции нервных структур улитки. При звуковом воздействии с мембраны круглого окна можно регистрировать суммарный электрический ответ улитки (СЭО), который составляется из МП и АП. Таким образом, суммарный

электрический ответ объективно отражает функцию периферического отдела слухового анализатора.

Измерение амплитудных и временных параметров СЭО проводили в нормальных условиях, после действия различных патологических факторов и при сочетании патологического фактора и предварительного введения I, который вводили однократно внутривенно за 1 ч до патологического воздействия на улитку в дозе 5 мг/кг.

Моделирование патологических состояний улитки в эксперименте осуществляли следующим образом. При стрептомициновой интоксикации после регистрации амплитудных и временных параметров СЭО улитки в норме электрод удаляли, а слуховую буллу заполняли на 15 мин раствором стрептомицина сульфата 0,5 мл (50 тыс. ЕД в 1 мл). Далее раствор отсасывали и буллу промывали изотоническим раствором хлорида натрия. Электрод вновь опускали на вторичную мембрану круглого окна и наблюдали за изменением СЭО улитки через 30 и 120 мин.

Для моделирования острой гипоксической гипоксии после обнажения слуховой буллы кошке накладывали трахеостому, через которую в трахее герметично фиксировали интубационную трубку, переводили животное на управляемое дыхание. Для получения гипоксической гипоксии респиратор соединяли с дыхательным мешком Дугласа, заполненным калиброванной газовой смесью, содержащей 7 % кислорода и 93 % азота, что соответствует подъему на высоту 8500 м и атмосферному давлению 246,8 мм рт. ст. (парциальному давлению кислорода 51,5 мм рт. ст.), время вдыхания гипоксической смеси составляло 30 мин. Регистрацию параметров СЭО проводили в динамическом диапазоне “щелчка” от 10 до 80 дБ над порогом обнаружения ответа в нормальных условиях, сразу после действия патологического фактора и через 60 мин.

Исследовали также влияние I при острой акустической травме. СЭО регистрировали в норме, затем поднимали электрод с мембраны круглого окна, закрывали костный дефект в булле, далее для моделирования острой акустической травмы проводили озвучивание “белым шумом” интенсивностью 105 дБ над нормальным порогом слышимости в течение 5 мин. Изменение амплитудных характеристик наблюдали сразу после звуковой нагрузки и через 1 ч после озвучивания.

С целью изучения фармакокинетики I, способности его проникать через гематоэнцефалический и гематолабиринтный барьер и непосредственно оказывать влияние на звуковой анализатор, проводили серию острых экспериментов на 30 половозрелых кошках обоего пола массой 2,5 – 3,0 кг, наркотизированных нембуталом (40 мг/кг внутрибрюшинно).

Раствор I вводили внутривенно из расчета 5 мкг/кг, после чего обнажали слуховую буллу кошки, далее производили забор венозной крови и из ликвора через 10, 20, 30, 45 и 60 мин, лабиринтной жидкости из одного уха через 15 мин, из другого уха через 30 мин, ликвора через 60 мин. Определение концентрации I в

биологических жидкостях осуществляли методом обратнoфазовой микроколонoчной хроматографии на хроматографе “Милихром-2” (НПО “Научприбор”, Орел). Для разделения компонентов использовали стеклянную микроколонку 150 × 1,0 мм, упакованную сорбентом Seragon SGX-C18, 5 мкм. Элюирование осуществляли в изократическом режиме со скоростью 20 мкл/мин. Состав элюента: 55 % ацетонитрила в 0,01 М Na-фосфатном буфере с рН 3,0. Объем вводимой пробы — 20 мкл. Детектирование спектрофотометрическое при длине волны 270 нм. Время анализа 12 мин. Предел детектирования томпастина 0,01 мкг/мл при соотношении сигнал/шум = 3.

Экстракцию I из биологических жидкостей проводили следующим образом. К 50 мкл сыворотки крови (ликвора, улитковой жидкости) добавляли 50 мкл 0,1 М раствора гидроксида натрия, 1 мл хлороформа и интенсивно перемешивали 15 мин с помощью микросмесителя. Смесь центрифугировали 5 мин при 6000 об/мин и отбирали аликвоту органической фазы объемом 800 мкл. Хлороформ удаляли, высушивая пробу в токе азота. Сухой остаток растворяли в 50 мкл фосфатного буфера с рН 3,0. Вводили в колонку 20 мкл пробы. Калибровочная зависимость площади пика томпастина от его концентрации строилась по методу точных добавок. Зависимость линейна в диапазоне от 0,05 до 25 мкг/мл. Доверительные интервалы для линейной регрессии и экспериментальных точек вычислены с использованием пакета программ Statg-

Таблица 1
Влияние томпастина (I) и гутими́на при внутривенном и внутрибрюшинном введении на переносимость острой гипобарической гипоксической гипоксии

Препарат (доза, мг/кг)	Время введения препарата, мин	Выживаемость животных на “высоте”, %	Средняя продолжительность жизни животных на “высоте”	
			$M \pm m$ (мин)	в % к контролю
Мыши (внутрибрюшинное введение)				
Контроль	–	0	2,2 ± 0,2	100
I (32)	30	50	12,6 ± 1,7*	572,73 ± 7,87
I (64)	30	60	15,5 ± 2,3*	704,55 ± 4,48
I (128)	60	30	17,5 ± 1,7*	795,45 ± 8,28
Гутимин (69)	15	50	11,2 ± 1,9*	509,09 ± 6,47
Крысы (внутрибрюшинное введение)				
Контроль	–	0	4,9 ± 0,8	100
I (8,5)	10	30	11,3 ± 2,1*	230,61 ± 5,27
I (17)	30	40	11,7 ± 2,3*	238,78 ± 6,29
I (27,5)	30	67	16,0 ± 1,5*	326,5 ± 7,72
I (55)	60	67	16,8 ± 1,0*	342,9 ± 5,34
I (110)	60	87	18,8 ± 1,8*	383,7 ± 9,34
Гутимин (12,5)	10	20	10,8 ± 2,4*	220,41 ± 8,38
Гутимин (50)	30	50	13,1 ± 2,1*	267,3 ± 7,01
Кролики (внутривенное введение)				
Контроль	–	0	6,8 ± 0,1	100
I (2)	10	52	16,8 ± 2,2*	247,06 ± 6,41

* Отличия от контроля статистически значимы, $p < 0,05$.

graphics. Коэффициент корреляции $K = 0,994$, среднеквадратичное отклонение не более 1,5 %, $p < 0,02$.

Острую токсичность I (ЛД₅₀) исследовали при внутрибрюшинном введении на белых крысах обоего пола массой 200 – 250 г [2, 3].

Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 1, предварительное применение I положительно влияет на выживаемость мышей в условиях гипобарической гипоксии (в дозах 32 и 64 мг/кг выживаемость животных увеличивается до 50 и 60 %, а средняя продолжительность жизни — в 5 – 7 раз). Аналогичные, но менее выраженные результаты получены в опытах с крысами и кроликами.

Этот эффект характеризуется достаточной фармакологической широтой. Действительно, величина ЛД₅₀ I при внутрибрюшинном введении крысам составляет 550 мг/кг. Оптимальный противогипоксический эффект у крыс достигается при введении дозы 1/10 от ЛД₅₀, а максимально вводимая доза препарата (110 мг/кг), обеспечивающая выживаемость 87 % животных, соответствует 1/5 от ЛД₅₀.

В опытах на мышах на модели гипобарической гипоксической гипоксии I близок к амтизолу по коэффициенту защиты (величины КЗ составляют 1,39 и 1,34 соответственно), но превосходит его по терапевтическому индексу (ТИ = 52,5 и 8,0 соответственно) [3].

На модели аноксии миокарда у крыс при раздельном внутрибрюшинном введении I в дозе 55 мг/кг и гутими́на в дозе 50 мг/кг длительность работы сердца, составляющая в контроле 7,5 ± 0,3 мин, увеличивается на 45 и 42 % (составляет 10,88 ± 0,4 мин и 10,65 ± 0,3 соответственно, $p < 0,05$).

На модели ишемии головного мозга при трехкратном (в течение 24 ч) внутрибрюшинном введении I (55 мг/кг) и гутими́на (50 мг/кг) выживают 70 и 50 % животных соответственно, а в контрольной группе — лишь 10 % ($p < 0,001$).

При гипоксии “нагрузки” время плавания мышей в контроле составляет 6,9 ± 0,3 мин. При введении I внутрибрюшинно в дозе 55 мг/кг длительность плавания мышей увеличивается на 138 ± 2 % и составляет 9,52 ± 0,4 мин ($p < 0,05$), тогда как гутимин в дозе 100 мг/кг вообще не изменяет уровня физической работоспособности животных.

Таким образом, I обладает сопоставимой с гутими́ном противогипоксической активностью при гипоксической и циркуляторной гипоксии, но превосходит его на модели гипоксии “нагрузки”. Противогипоксическая активность препарата не является видоспецифичной.

При изучении защитного действия I в отношении слухового анализатора получены следующие результаты. В нормальных условиях при увеличении интенсивности щелчка от 10 до 80 дБ происходит увеличение амплитуд МП и АП.

В эксперименте по моделированию стрептомициновой интоксикации биоэлектрическая активность улит-

Влияние томпастина (I) на значения амплитуды микрофонного и акционного потенциалов улитки кошек после стрептомициновой интоксикации

Условия опыта (мкВ/дБ)	Интенсивность звукового щелчка, дБ								Среднее значение	
	10		30		60		80			
	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП
Норма (группа 1)	30,3 ± 0,8	153,0 ± 2,5	170,3 ± 1,3	520,7 ± 3,6	1334,3 ± 4,1	955,0 ± 2,8	1758,3 ± 4,4	1750,4 ± 5,7	823,3 ± 1,8	844,8 ± 2,7
Стрептомицин (группа 2)	16,8 ± 0,6	84,3 ± 1,4	93,5 ± 2,5	195,1 ± 6,4	718,8 ± 4,2	462,5 ± 2,2	960,0 ± 4,0	830,5 ± 4,0	447,3 ± 2,5	393,1 ± 3,3
% снижения от нормы	55,2 ± 0,5	55,1 ± 3,5	54,9 ± 2,5	37,5 ± 4,2	53,9 ± 6,3	48,4 ± 3,1	54,6 ± 3,8	47,4 ± 4,9	54,6 ± 1,3	47,1 ± 4,8
Стрептомицин + I (30 мин) (группа 3)	20,6 ± 0,9	106,8 ± 1,9	112,9 ± 3,3	269,4 ± 5,0	875,6 ± 3,3	589,6 ± 3,5	1153,5 ± 5,3	1102,4 ± 3,7	540,6 ± 2,8	517,1 ± 3,8
% снижения от нормы	68,0 ± 2,0	69,8 ± 2,9	66,3 ± 3,6	51,7 ± 2,4	65,6 ± 1,3	61,7 ± 1,8	65,6 ± 3,1	63,0 ± 2,1	66,4 ± 1,3	61,6 ± 3,1
Стрептомицин + I (2 ч) (группа 4)	24,5 ± 1,0	136,0 ± 2,1	133,3 ± 2,5	374,6 ± 4,2	1022,4 ± 5,1	771,0 ± 3,5	1329,3 ± 5,2	1434,9 ± 6,8	627,4 ± 2,1	679,2 ± 4,8
% снижения от нормы	81,1 ± 1,5	88,9 ± 2,6	78,3 ± 1,4	71,9 ± 3,9	76,6 ± 2,4	80,7 ± 1,3	75,6 ± 2,4	82,0 ± 2,1	77,9 ± 1,3	80,9 ± 3,1
I (группа 5)	38,3 ± 0,7	163,4 ± 2,0	165,0 ± 1,5	501,5 ± 3,5	1345,3 ± 3,2	967,1 ± 2,5	1774,1 ± 3,9	1732,2 ± 4,3	830,7 ± 2,5	841,0 ± 2,5
1 – 2*	≤ 0,001	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
1 – 3	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
2 – 3	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01
1 – 4	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
1 – 5	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

* уровни достоверности между группами

ки резко снижается. При этом происходит угнетение функции рецепторного аппарата улитки, о чем свидетельствует уменьшение амплитуды МП при интенсивности “щелчка” в диапазоне от 10 до 80 дБ в среднем до $54,6 \pm 1,3$ % и АП до $47,1 \pm 4,8$ % от исходного значения без видимой тенденции к восстановлению (табл. 2). Однако при сочетанном воздействии стрептомицина на фоне применения I уже через 30 мин после удаления стрептомицина начинает проявляться положительный эффект антигипоксанта: амплитуда МП в среднем составляет $66,4 \pm 1,3$ % от нормы, АП — $61,6 \pm 3,1$ %, а через 2 ч уже $77,9 \pm 1,3$ % и $80,9 \pm 3,1$ % соответственно. Таким образом, предварительное применение томпастина увеличивает амплитуду МП (на 23,3 %) и N1 АП (на 33,8 %), что свидетельствует о защитном действии препарата при стрептомициновой интоксикации улитки. Следует отметить, что при экспериментальном введении антигипоксанта в физиологических условиях препарат не оказывает влияния на функцию улитки, то есть амплитудные и временные параметры СЭО в течение 2 ч после введения I не отличаются от нормальных.

При острой гипоксической гипоксии суммарный электрический ответ улитки значительно отличается от нормы (табл. 3). Установлено, что непосредственно

после действия 30 мин гипоксии амплитуда МП и N1 АП снижается в среднем до 60,3 и 28,1 % от нормы. Если оценить положительный эффект I на величину снижения и восстановления амплитуды СЭО в условиях гипоксии, видно, что он начинает оказывать защитное влияние непосредственно после действия патологического фактора: средняя амплитуда МП составляет $69,3 \pm 1,9$ %, N1 АП — $51,3 \pm 1,8$ %, повышаясь в течение последующего часа до $74,9 \pm 1,6$ % и $73,7 \pm 3,7$ % соответственно. То есть применение I при гипоксической гипоксии восстанавливает амплитуду МП на 14,7 % и АП на 45,6 %.

В условиях звуковой нагрузки средняя амплитуда МП падает до $60,4 \pm 2,3$ % от нормы, I непосредственно после акутравмы восстанавливает амплитуду МП на 8,9 %, а через 1 ч после нагрузки еще на 5,7 %, т.е. общий эффект применения препарата в восстановлении амплитуды МП составляет 14,6 % (табл. 4). Однако в этих условиях более существенным оказывается изменение амплитуды N₁ АП, которая составляет всего 24,1 % от нормы. I уже сразу после акутравмы почти в 2 раза повышает данный показатель до 44,2 %, а через 60 мин до 65,1 %, т.е. амплитуда N₁ АП восстанавливается на 41 %, что свидетельствует о большем

Влияние томпаσιна (I) на значения амплитуды микрофонного и акционного потенциалов улитки кошек при острой гипоксической гипоксии

Условия опыта (мкВ/дБ)	Интенсивность звукового щелчка, дБ								Среднее значение	
	10		30		60		80			
	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП
Норма (группа 1)	30,3 ± 0,8	153,0 ± 2,5	170,3 ± 1,3	520,7 ± 3,67	1334,3 ± 4,19	955,0 ± 2,89	1758,33 ± 4,41	1750,0 ± 5,7	823,3 ± 0,8	844,8 ± 5,8
Гипоксия (группа 2)	17,2 ± 0,5	44,2 ± 1,3	100,5 ± 2,5	121,0 ± 6,45	840,7 ± 3,27	290,5 ± 2,19	1100,0 ± 4,08	520,0 ± 3,02	514,6 ± 1,4	243,9 ± 1,8
% от нормы	56,5 ± 1,2	28,9 ± 1,4	59,0 ± 2,6	23,2 ± 1,23	63,0 ± 2,35	30,4 ± 1,23	62,6 ± 2,93	29,7 ± 2,31	60,3 ± 1,8	28,1 ± 2,3
Гипоксия + I (сразу) (группа 3)	20,2 ± 3,9	77,9 ± 2,5	122,6 ± 4,6	266,8 ± 4,56	934,1 ± 5,29	491,1 ± 3,49	1205,5 ± 4,83	905,0 ± 4,89	570,6 ± 2,8	435,2 ± 2,8
% от нормы	66,5 ± 1,3	50,9 ± 2,3	72,0 ± 3,1	51,2 ± 1,96	70,0 ± 2,34	51,4 ± 1,23	68,6 ± 2,71	51,7 ± 4,37	69,3 ± 1,9	51,3 ± 1,8
Гипоксия + I (60 мин) (группа 4)	22,0 ± 0,9	122,1 ± 1,9	138,4 ± 3,3	390,2 ± 5,06	975,6 ± 3,30	679,8 ± 3,54	1280,4 ± 5,33	1201,8 ± 3,71	604,1 ± 2,8	598,5 ± 4,9
% от нормы	72,6 ± 2,6	79,8 ± 2,68	81,3 ± 1,8	74,9 ± 3,48	73,1 ± 1,29	71,2 ± 2,71	72,8 ± 1,92	68,7 ± 2,34	74,9 ± 1,6	73,7 ± 3,7
1 – 2*	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,01
1 – 3	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,01
2 – 3	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001
2 – 4	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
1 – 4	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05

* уровни достоверности между группами

влиянии I на нервные проводящие пути слухового анализатора.

Данные, приведенные в табл. 2 – 4, позволяют считать антигипоксикант I перспективным патогенетиче-

ским средством для лечения острой сенсоневральной тугоухости.

В результате исследования фармакокинетики I обнаружено, что концентрация препарата в плазме крови

Влияние томпаσιна (I) на значения амплитуды микрофонного и акционного потенциала улитки кошек после акутравмы

Условия опыта (мкВ/дБ)	Интенсивность звукового щелчка, дБ								Среднее значение	
	10		30		60		80			
	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП	МП	N 1 АП
Норма (группа 1)	30,3 ± 0,9	153,0 ± 2,5	170,3 ± 1,3	520,7 ± 3,6	1334,3 ± 4,2	955,0 ± 2,9	1758,3 ± 4,4	1750,0 ± 5,7	823,3 ± 2,7	844,7 ± 3,9
Акутравма (группа 2)	17,3 ± 0,5	20,01 ± 1,3	100,5 ± 2,5	120,0 ± 6,4	840,7 ± 3,3	290,5 ± 2,9	1100,0 ± 4,1	525,0 ± 3,0	515,4 ± 2,6	238,9 ± 3,5
% от нормы	57,1 ± 1,2	13,1 ± 2,1	59,0 ± 2,6	23,0 ± 2,3	63,0 ± 2,4	30,4 ± 2,9	62,6 ± 2,9	30,0 ± 2,2	60,4 ± 2,3	24,1 ± 2,7
Акутравма + I (сразу) (группа 3)	20,2 ± 4,0	50,5 ± 3,1	122,6 ± 4,6	229,0 ± 4,2	920,1 ± 5,3	482,6 ± 4,0	1080,5 ± 5,8	861,5 ± 3,9	535,9 ± 4,9	405,9 ± 4,2
% от нормы	66,5 ± 1,4	33,0 ± 2,4	72,0 ± 3,1	44,0 ± 1,4	70,0 ± 2,3	50,5 ± 2,2	68,6 ± 2,7	49,2 ± 1,6	69,3 ± 2,4	44,2 ± 1,9
Акутравма + I (60 мин) (группа 4)	25,0 ± 0,9	90,1 ± 1,9	130,4 ± 3,3	360,2 ± 5,0	990,6 ± 3,3	580,2 ± 3,5	1300,4 ± 5,3	1250,8 ± 3,7	611,6 ± 3,2	570,3 ± 2,9
% от нормы	72,6 ± 2,6	58,9 ± 2,2	81,3 ± 1,8	69,2 ± 1,5	73,1 ± 1,3	60,8 ± 2,4	72,8 ± 1,9	71,5 ± 1,7	75,0 ± 1,9	65,1 ± 1,9
1 – 2*	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,001
1 – 3	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,01
2 – 3	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,01
1 – 4	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,01	≤ 0,05

* уровни достоверности между группами.

кошек через 10 мин после введения в среднем составляет $9,72 \pm 1,37$ мкг/мл и постепенно снижается в течение 1 ч до $4,76 \pm 0,67$ мкг/мл, причем в 70 % случаев максимальная концентрация появляется через 10 мин после введения препарата, а в остальных случаях в течение ближайших 20 мин.

Установлено, что I проникает через гематоэнцефалический и гематолабиринтный барьеры. Концентрация препарата в лабиринтной жидкости через 15 мин после введения составляет $1,24 \pm 0,35$ мкг/мл, через 45 мин $0,86 \pm 0,19$ мкг/мл, в ликворе через 60 мин $0,82 \pm 0,16$ мкг/мл, причем статистически достоверной разницы содержания I в лабиринтной жидкости и ликворе нет. Следовательно, препарат, проникая через биологические барьеры, непосредственно действует на слуховой анализатор.

Следует отметить, что концентрации I в плазме, ликворе и лабиринтной жидкости на порядок отличаются между собой; имеется также корреляция между скоростью падения концентрации I в лабиринтной жидкости и плазме: в обоих случаях концентрация уменьшается в 2 раза. Приведенные данные могут быть использованы для вычисления терапевтических концентраций.

Таким образом, по данным изучения фармакокинетики I можно сделать вывод о том, что его антигипоксическое действие определяется его способностью проникать через гематолабиринтный и гематоэнцефалический барьеры и оказывать непосредственное влияние на периферический отдел слухового анализатора.

Авторы выражают благодарность за помощь в разработке методики количественного определения томпаслина Н. Д. Телеповой, состава его лекарственной формы Е. И. Саканян и М. У. Мунжуковой, методики определения в физиологических жидкостях — О. В. Абрамович и В. А. Лугинину.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Б. Томчин, М. М. Пономарева, А. Л. Пастушенков и др., А. с. СССР № 1045587 (1982), *Бюл. изобрет.*, № 36 (2006).
2. Л. В. Пастушенков, А. Б. Томчин, В. И. Линьков и др., *Средство для лечения острой и внезапной сенсоневральной*

- тугоухости и глухоты*, Патент РФ № 2119335, *Бюл. изобрет.*, № 27 (1998).
3. А. Б. Томчин, О. Ю. Урюпов, Т. И. Жукова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **31**(3), 19 – 27 (1997).
4. Е. А. Лукьянец, А. Б. Томчин, В сб.: *Тезисы XIV съезда Украинского физиол. общества им. И. П. Павлова*, Киев (1994), сс. 12 – 13.
5. С. А. Козлов, О. Ю. Урюпов, А. Б. Томчин и др., *Вопр. мед. химии*, **37**(3), 31 – 32 (1991).
6. И. Н. Январева, О. Ю. Урюпов, А. Б. Томчин и др., *Вестник Лен. гос. ун-в.*, сер. 3, вып. 2 (№ 10), 59 – 63 (1990).
7. Н. Н. Плужников, О. Ю. Урюпов, А. Б. Томчин и др., *Вестник Санкт-Петербургск. ун-в.*, сер. 3, вып. 2 (№ 10), 50 – 55 (1993).
8. Э. П. Гаудинь, *Вестник оториноларин.*, № 6, 91 – 96 (1974).
9. И. О. Енин, *Вестник оториноларин.*, № 4, 39 – 43 (1973).
10. И. С. Иоффе, А. Б. Томчин, Е. Н. Жукова, *Журн. общ. химии*, **39**(1), 70 – 78 (1969).
11. И. С. Иоффе, А. Б. Томчин, Е. Н. Жукова, *Журн. общ. химии*, **39**(1), 78 – 83 (1969).
12. А. Б. Томчин, Ю. В. Лепп, *Журн. орган. химии*, **14**(7), 1544 – 1549 (1978).
13. Т. Р. Овсепян, Н. С. Ирадян, В сб.: *Синтезы гетероциклических соединений*, 10, Ереван (1975), сс. 64 – 65.
14. И. С. Иоффе, А. Б. Томчин, *Журн. общ. химии*, **40**(4), 859 – 862 (1970).
15. P. S. Wadia, T. S. Asthana, M. L. Dhan, *J. Sci. Industr. Res.*, **17**(1), 11 – 24 (1958).
16. D. G. Doherty, R. Shapiro, W. T. Burhett, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**(23), 5667 – 5671.
17. И. С. Иоффе, А. Б. Томчин, Е. Н. Жукова, *Журн. общ. химии*, **39**(9), 2111 – 2116 (1969).
18. *Синтезы органических препаратов*, сб. 2, ИЛ, Москва (1949), сс. 126 – 129.
19. Р. Поллодек-Фабини, Т. Бейрих, *Органический анализ*, пер. с нем., Химия, Ленинград (1981), сс. 57, 129.
20. М. Л. Беленький, *Методы количественной оценки фармакологического эффекта*, 2-е изд., Медицина, Москва (1963).
21. Л. В. Пастушенков, *Фармакол. и токсикол.*, № 6, 725 – 730 (1966).
22. В. М. Виноградов, О. Ю. Урюпов, *Фармакол. и токсикол.*, (2), 47 – 50 (1988).
23. Л. Д. Лукьянова, в сб.: *Клеточные механизмы реализации фармакологического эффекта*, НИИ фармакологии, Москва (1990), сс. 184 – 216.
24. Ю. Г. Бобков, В. М. Виноградов, В. Ф. Катков и др., *Фармакологическая коррекция утомления*, Медицина, Москва (1984).
25. G. F. Kiplinger, *Tex. Pepst. Biol. Med.*, **25**(3), 531 – 540 (1967).

Поступила 18.12.06

STRUCTURE, TRANSFORMATIONS AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF THIOUREA AND THIOSEMICARBAZIDE DERIVATIVES. 10: SYNTHESIS, PHARMACOLOGICAL AND PHARMACOKINETIC PROPERTIES OF THE NEW ANTIHYPOXANT AND ANTISURDITANT DRUG TOMPASLINE

A. B. Tomchin, L. V. Pastushenkov, A. L. Pastushenkov, V. I. Lin'kov, E. G. Belicheva, and V. E. Ivanov

St. Petersburg Academy of Postgraduate Medical Training, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Pharmacological investigation of the new triazinoindole derivative, 3-(2-morpholinoethylthio)-1,2,4-triazino[5, 6-b]indole dihydrochloride monohydrate (tompasline), on various animals in a broad range of doses and for different ways of administration showed that this new drug exhibits a high antihypoxant activity and this activity is not form-specific. The antihypoxant activity of tompasline is comparable with that of guthimine on the models of hypoxic and circulatory hypoxia, but tompasline is superior on the model of hypoxic load. The high protective effect tompasline on the function of sound analyzer shows good prospects for this drug as a specific antisurditant in cases of sensorineural deafness. Preparative synthesis of a pharmacopoeial-quality parent substance of tompasline has been developed, and methods for its qualitative identification and quantitative determination in solution and in biological fluids, meeting all pharmacopoeial requirements have been developed. A medicinal form of tompasline as solution for intravenous injections is proposed. The technology of tompasline can be more readily implemented than that of guthimine and amthizole.