

З. П. Белоусова, В. А. Осянин, Н. А. Кленова

**ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 4-(1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1-ИЛМЕТИЛ)- И 4-(2-МЕТИЛ-1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1-ИЛМЕТИЛ)ФЕНОЛОВ И ИХ ГЛИКОЗИДОВ**

Самарский государственный университет

Синтезированы 4-(1Н-бензимидазол-1-илметил)- и 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенил-β-D-глюкопиранозиды гликозилированием соответствующих 4-(1Н-бензимидазол-1-илметил)фенола и 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенола. Изучена их гемолитическая активность на цельной венозной донорской крови человека в концентрациях 100, 200, 300 мкг/мл. Выявлено, что гликозиды проявляют большую биологическую активность и быстрее поступают в эритроциты, чем исходные фенолы. Это делает возможным перспективу разработки на их основе новых лекарственных средств.

Производные бензимидазола являются структурными компонентами многих лекарственных препаратов, в том числе противоопухолевых и антигрибковых [1]. Ранее нами был разработан метод синтеза 4-(1Н-азол-1-илметил)фенолов [2] и изучена их генотоксичность [3].

Целью данной работы является синтез фенилгликозидов — производных бензимидазола и β-D-глюкопиранозы и изучение их гемолитических свойств.

Синтез 4-(1Н-бензимидазол-1-илметил)- и 4-(2-метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенил-β-D-глюкопиранозидов осуществляли по приведенной схеме.

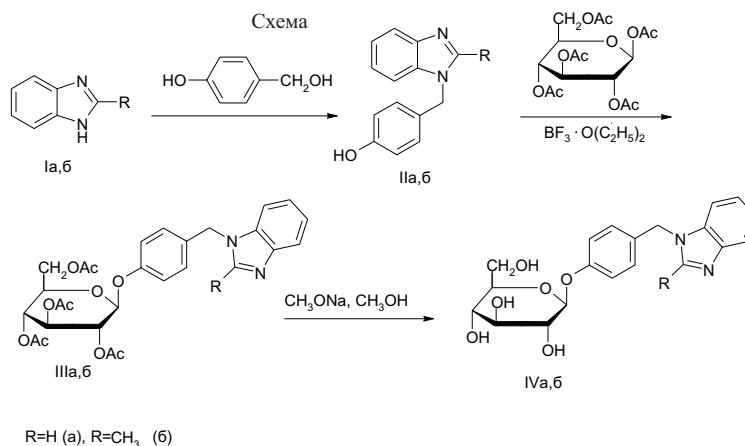
*Экспериментальная химическая часть*

ИК-спектры записаны на спектрометре Shimadzu FTIR-8400S (Япония) в таблетках бромида калия. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H сняты на приборе Bruker с рабочей частотой 400 МГц по <sup>1</sup>H в ДМСО-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт — ГМДС. Чистоту полученных соединений определяли методом ТСХ на пластинках “Silufol UV-254”.

**4-(1Н-Бензимидазол-1-илметил)фенол (Ia), 4-(1Н-бензимидазол-1-илметил)фенил-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид (IIa) и 4-(1Н-бензимидазол-1-илметил)фенил-β-D-глюкопиранозид (IVa)** получали по методике [2].

**4-(2-Метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенол (Iб).** Смесь 13,2 г (0,1 моль) 2-метил-1Н-бензимидазола (Iб) и 12,4 г (0,1 моль) 4-гидроксibenзилового спирта нагревали при 155 °С при энергичном перемешивании в течение 20–30 мин. После охлаждения расплава продукт тщательно промывали холодным этанолом, а затем перекристаллизовывали из смеси этанол – ДМФА. Выход 73 %, т. пл. 237–238° С. ИК-спектр, см<sup>-1</sup>: 3120–2480 (ОН), 1610, 1596 (C=C, C=N), 1516, 1510, 1454, 1410 (C–OH), 1271, 1245 (C–OH), 740. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, м. д.: 2,50 с (3H, CH<sub>3</sub>), 5,33 с (2H, CH<sub>2</sub>), 6,73 д (2H, H-2), 7,18 д (2H, H-3, J<sub>23</sub> 8,4 Гц), 7,21 д, 7,23 д (2H, H<sub>гетер.</sub>-4,7), 7,55 дд, 7,61 дд (2H, H<sub>гетер.</sub>-5,6), 9,48 с (1H, OH). C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O.

**4-(2-Метил-1Н-бензимидазол-1-илметил)фенил-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид (IIб).** Смешивали 1,95 г (5 ммоль) 1,2,3,4,6-пента-О-ацетил-β-D-глюкопиранозы и 1,19 г (5 ммоль) IIб с 15 мл безводного хлористого метилена. При энергичном перемешивании на магнитной мешалке добавляли 1,88 мл (15 ммоль) BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O и продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 24 ч. Осадок отфильтровывали, а фильтрат промывали несколько раз 5 % водным раствором NaHCO<sub>3</sub>, затем водой, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали в вакууме. Полученный продукт перекристаллизовывали из 95 % этанола. Выход 73 %, т. пл. 237–238° С. ИК-спектр, см<sup>-1</sup>: 1740 (C=O), 1611, 1510 (C=C, C=N), 1454, 1403, 1237, 1072,



1050, 927, 907, 893, 765. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ , м. д.: 1,96 с, 1,97 с, 1,99 с, 2,00 с (12H, AcO), 2,51 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,04 м (1H, H-5'), 4,15 – 4,23 м (2H, H-6'), 5,01 – 5,51 м (3H, H-2'/4'), 5,05 д (1H, H-1',  $J_{12}$  8,1 Гц), 5,44 с (2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,97 д (2H,  $\text{H}_{\text{аром.}}$ -2), 7,21 м (2H,  $\text{H}_{\text{гетер.}}$ -5,6), 7,34 д (2H,  $\text{H}_{\text{аром.}}$ -3,  $J_{23}$  8,4 Гц), 7,51 д, 7,68 д (2H,  $\text{H}_{\text{гетер.}}$ -4,7).  $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{10}$ .

**4-(2-Метил-1H-бензимидазол-1-илметил)фенил- $\beta$ -D-глюкопиранозид (IVб).** К 1 г (1,76 ммоль) IIIб в 10 мл сухого метанола при перемешивании при комнатной температуре прибавляли 3 мл 0,1 н. раствора метилата натрия в метаноле. Смесь выдерживали 12 ч, а затем перемешивали со смолой амберлит IR-120 ( $\text{H}^+$ ) до нейтральной реакции раствора. Смолу отфильтровывали, раствор упаривали в вакууме, остаток перекристаллизовывали из воды. Выход 86 %, т. пл. 222 – 223° С. ИК-спектр,  $\text{cm}^{-1}$ : 3340 (OH), 1608, 1594 ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{N}$ ), 1512, 1454, 1417, 1271, 1245, 899, 763. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ , м. д.: 2,52 с (3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,19 – 3,58 м (6H, H-2'/6'), 4,82 д (1H, H-1',  $J_{12}$  7,3 Гц), 5,34 с (2H,  $\text{CH}_2$ ), 6,76 д (2H,  $\text{H}_{\text{аром.}}$ -2), 7,18 д (2H,  $\text{H}_{\text{аром.}}$ -3,  $J_{23}$  8,4 Гц), 7,23 д, 7,26 д (2H,  $\text{H}_{\text{гетер.}}$ -4,7), 7,57 дд, 7,64 дд (2H,  $\text{H}_{\text{гетер.}}$ -5,6).  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ .

#### Экспериментальная биологическая часть

Цельную венозную донорскую кровь человека инкубировали в пробирках, содержащих по 5 мл 0,154 М раствора NaCl, с добавлением 10, 20 и 40 мкл растворов II – IV (а-б) в ДМСО, что составило конечную концентрацию 100, 200 и 300 мкг/мл соответственно, при 37° С в течение 5 мин. В контрольные пробы добавляли растворитель в том же объеме и обрабатывали так же, как опытные. После окончания инкубации пробы центрифугировали в режиме 600 g 10 мин. Оптическую плотность измеряли на КФК-3, длина волны 540 нм (общий максимум для гемоглобина). Степень гемолиза выражали в процентах по отношению к полному гемолизу, который вызывали добавлением 0,1 мл 20 % тритона X-100. Результаты исследований приведены в таблице.

Изучение гемолитической активности IIа и IIб показало, что концентрации 100, 200, 300 мкг/мл не приводят к увеличению процента гемолизированных клеток по отношению к действию растворителя. Кроме того, соединение IIа в концентрации 300 мкг/мл снижает процент гемолизированных клеток на 18,5 %, что

#### Действие 4-(1H-бензимидазол-1-илметил)- и 4-(2-метил-1H-бензимидазол-1-илметил)фенил- $\beta$ -D-глюкопиранозидов (II – IVа – б) на цельную донорскую кровь

Соединение	Концентрация, мкг/мл	Число повторов	Процент гемолизированных клеток	Контроль
IIа	100	7	39,02 ± 1,97	39,29 ± 2,84
	200	7	42,95 ± 2,93	47,3 ± 6,27
	300	7	50,12 ± 3,17 <sup>1,2,3</sup>	61,50 ± 4,97
IVа	100	7	39,73 ± 1,75	39,29 ± 2,84
	200	7	63,17 ± 2,35 <sup>1,2,3</sup>	47,3 ± 6,27
	300	7	64,53 ± 2,35 <sup>3</sup>	61,50 ± 4,97
IIб	100	14	16,95 ± 1,73 <sup>1,4</sup>	22,49 ± 2,11
	200	16	15,70 ± 2,26 <sup>1,4</sup>	25,06 ± 2,71
	300	15	20,36 ± 1,38 <sup>4</sup>	23,03 ± 23,03
IVб	100	14	24,04 ± 2,52	22,49 ± 2,11
	200	16	36,27 ± 3,53 <sup>1,5</sup>	25,06 ± 2,71
	300	15	43,70 ± 4,85 <sup>1,5</sup>	23,03 ± 23,03

<sup>1</sup>  $P < 0,05$  — по отношению к контрольной пробе; <sup>2</sup>  $P < 0,05$  — между IIа и IVа; <sup>3</sup>  $P < 0,05$  — по отношению к концентрации 100 мкг/мл; <sup>4</sup>  $P < 0,01$  — между IIб и IVб; <sup>5</sup>  $P < 0,01$  — по отношению к концентрации 100 мкг/мл.

позволяет предположить наличие мембраностабилизирующего эффекта.

У соединения IIб подобный эффект обнаруживается уже при более низких концентрациях.

Гликозиды обоих соединений IVа и IVб в концентрациях 100 мкг/мл также не увеличивают процент погибших. Однако соединение IVа в концентрации 200 мкг/мл вызывает усиление механического гемолиза и процент погибших клеток становится выше, чем в контроле, на 33,6 %. Соединение IVб дозозависимо повышает процент погибших клеток по отношению к контролю.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Ч. 2, Новая волна, Москва (2001).
2. В. А. Осянин, П. П. Пурыгин, З. П. Белоусова, П. Е. Красников, *Изв. вузов. Сер. хим. и хим. технол.*, **46**(1) 138 – 141 (2003).
3. В. А. Осянин, З. П. Белоусова, Е. С. Селезнева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **37**(9), 30 – 31 (2003).

Поступила 28.03.06

#### HEMOLYTIC ACTIVITY OF 4-(1H-BENZIMIDAZOL-1-YL-METHYL)- AND 4-(2-METHYL-1H-BENZIMIDAZOL-1-YL-METHYL)PHENOLS AND THEIR GLYCOSIDES

Z. P. Belousova, V. A. Osyenin, and N. A. Klenova

Samara State University, Samara, Russia

4-(1H-Benzimidazol-1-yl-methyl)- and 4-(2-methyl-1H-benzimidazol-1-yl-methyl)phenyl- $\beta$ -D-glucopyranosides have been synthesized by glycosylation of the corresponding phenols. The hemolytic activity synthesized compounds was studied on whole venous human donor blood in concentrations of 100, 200, 300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . It is established that glycosides exhibit high biological activity and enter erythrocytes faster than do the initial phenols, which implies good prospect for the development of new drugs.