АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

# ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

# ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

СВЕРДЛОВСК, 1978

УДК 577.391 : 547

**Органический синтез и биологическая активность.** Сб. статей. Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Приведены материалы по синтезу, исследованию физико-химических и биологических свойств новых органических соединений, создаваемых с целью изыскания препаратов, обладающих радиопротекторными и детоксицирующими свойствами.
Сборник рассчитан на химиков, фармакологов, токсикологов, радиобиологов.

*Ответственные редакторы И. Я. ПОСТОВСКИЙ, Э. А. ТАРАХТИЙ*

---

© УНЦ АН СССР, 1978. О $\frac{20503-851}{055\ (02)\ 7}$ 8 — 1978

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин,*
*И. Я. Постовский, В. И. Филякова, Э. А. Тарахтий*

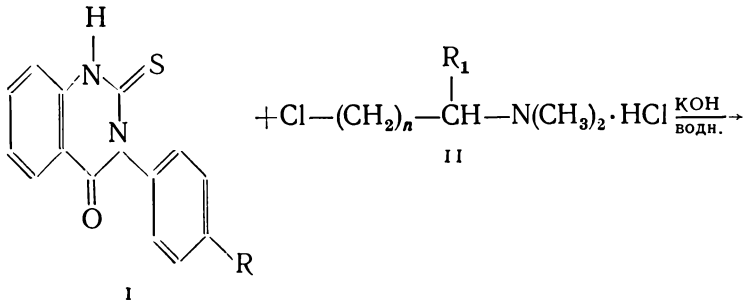
# 2-(ДИМЕТИЛАМИНОАЛКИЛ)ТИО-3-АРИЛХИНАЗОЛОНЫ-4 КАК ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ РАДИОЗАЩИТНЫХ АМИНОТИОЛОВ

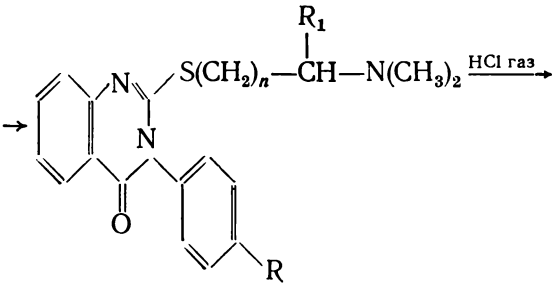
Многочисленными исследованиями [1, 2] показана высокая противолучевая активность аминотиолов. При этом установлено, что оптимальной является структура, в которой алифатическая цепь состоит из двух-трех углеродных атомов. Вполне понятны попытки модифицирования этих соединений с целью уменьшения их токсичности и испытания противолучевой активности [2]. Известно [1, 2], что для проявления радиопротекторного действия меркаптогруппа в аминотиолах должна либо быть свободной, либо иметь легко отщепляющийся заместитель — изотиурониевые производные, тиосульфаты (соли Бунте) или тиофосфаты. Опубликованы данные о радиозащитном действии других соединений, которые могут распадаться с выделением свободного тиола — это *S*-ацильные производные β-меркаптоэтиламина [3, 4] и аминоалкилтиозамещенные пурины [5, 6].

Цель настоящей работы — изучить протекторную эффективность соединений, в которых легко отщепляющийся радикал был бы присоединен к аминотиолу по меркаптогруппе. В качестве такого радикала был избран хиназолин. Получен ряд хиназолиновых производных меркаптоалкиламина и изучена его радиопротекторная активность.

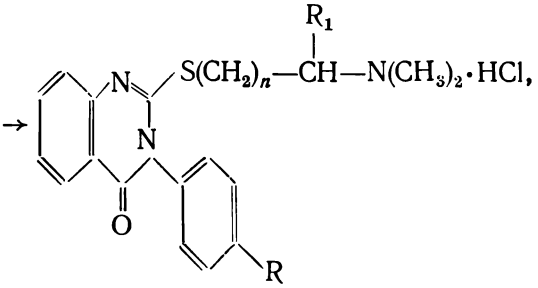
## Синтез и химические свойства веществ

Синтез препаратов осуществляли по следующей схеме:






III

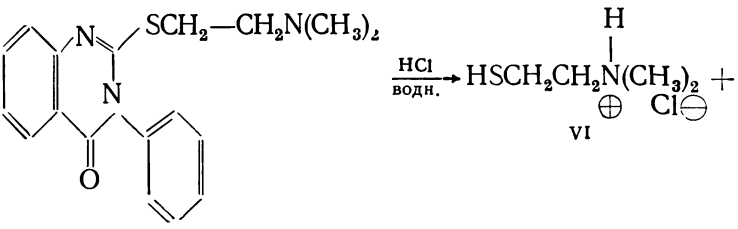



IV

где R: 1) H, 2) $CH_3$, 3) $OCH_3$, 4) Cl;

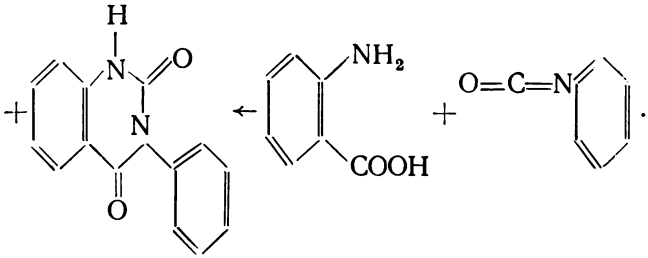
$R_1$: а) H, $n=1$, б) H, $n=2$, в) $CH_3$, $n=1$.

Алкилированием 2-тио-3-арилхиназолонов-4 (I) диметиламиноалкилхлоридами (II) в водно-щелочной среде были получены 2-(диметиламиноалкил)тио-3-арилхиназолоны-4 (III). Обработкой последних газообразным хлористым водородом в бензольном растворе получены водорастворимые солянокислые соли (IV), пригодные для испытаний радиозащитного действия. Строение соединений III доказано химическим путем и исследованием их УФ-спектров. При кипячении соединения III 1а в 6 н. соляной кислоте




III 1а

VI



V

выделены два продукта: 3-фенилхиназолиндион-2,4 (V), строение которого подтверждено встречным синтезом из антраниловой кислоты и фенилизоцианата, и гидрохлорид 2-β-диметиламиноэтилмеркаптана (VI). Идентичность структуры III 1а и остальных соединений III подтверждается почти полным совпадением их УФ-спектров, имеющих три максимума: $\lambda_{max}=223\div225$ *нм*, $\lg\varepsilon=4{,}50\div4{,}55$; $\lambda_{max}=275\div278$ *нм*, $\lg\varepsilon=4{,}15\div4{,}20$; $\lambda_{max}=312\div315$ *нм*, $\lg\varepsilon=3{,}65\div3{,}70$.

Способность соединений III к отщеплению аминотиола является, как предполагалось выше, существенной для проявления их радиозащитного действия. Мы провели определение относительных скоростей кислотного гидролиза этих веществ с целью выявления закономерностей этой реакции, а также для сопоставления скорости расщепления с радиозащитной активностью. Реакцию проводили в смеси равных объемов 0,6 н. серной кислоты и ледяной уксусной кислоты при 98°. Как показала проверка, соединения III подчиняются закону Ламберта — Бера, что дает возможность определять уменьшение концентрации исходного вещества в ходе реакции по уменьшению оптической плотности раствора. Скорости измеряли при $\lambda=275$ *нм*, где исходные соединения имеют максимум поглощения, а конечные (3-арилхиназолиндионы-2,4) — практически не поглощают. По полученным данным построены графики зависимости

$$\left(\frac{D}{D_0}\right)\cdot 100\% = f(\tau),$$

где $D$ — оптическая плотность в момент времени $\tau$;

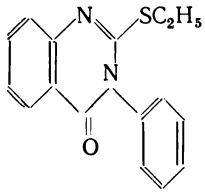
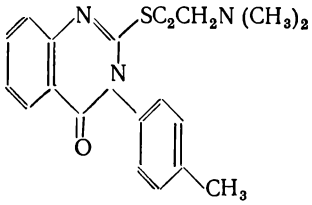
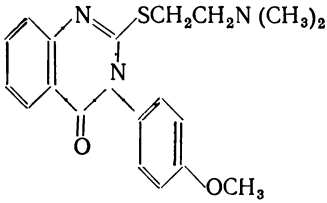
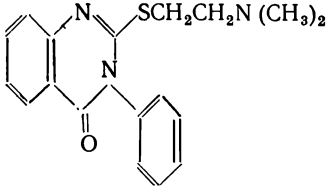
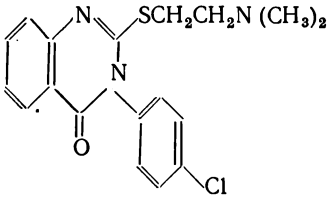
$D_0$ — начальная оптическая плотность при $\tau=0$.

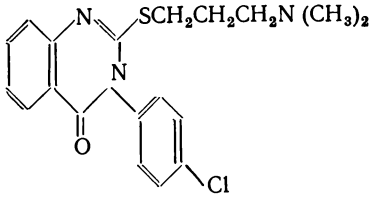
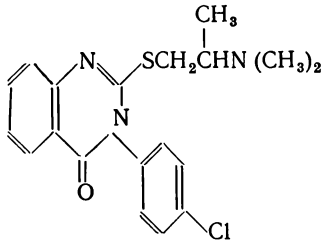
По этим графикам вычислены величины $\tau_{0,1}$, $\tau_{0,2}$, $\tau_{0,3}$, $\tau_{0,5}$ — время уменьшения начальной оптической плотности на 10; 20; 30, 50% соответственно (табл. 1), которые служили мерой относительной скорости реакции: большим значениям $\tau$ соответствует меньшая скорость.

Скорость гидролиза определяется нуклеофильной атакой 2-положения протонированного хиназолина молекулой воды. Из данных табл. 1 видно, что арильный заместитель R в соответствии с его удаленностью от реакционного центра мало влияет на ско-

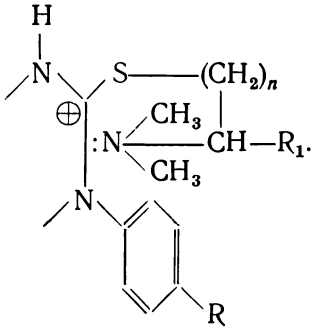
Таблица 1

**Относительная скорость кислотного гидролиза 2-(диметиламиноалкил)тио-3-арилхиназолонов-4, *мин***

| № соединения | Структурная формула | $\tau_{0,1}$ | $\tau_{0,2}$ | $\tau_{0,3}$ | $\tau_{0,5}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| VII |  | 12 | 24 | 35 | 65 |
| III 2a |  | 67 | 133 | 220 | >300 |
| III 3a |  | 45 | 115 | 216 | >300 |
| III 1a |  | 38 | 107 | 198 | >300 |
| III 4a |  | 30 | 78 | 139 | >300 |

| № соединения | Структурная формула | $\tau_{0,1}$ | $\tau_{0,2}$ | $\tau_{0,3}$ | $\tau_{0,5}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| III 4б |  | 18 | 37 | 58 | >300 |
| III 4в |  | 35 | 87 | 164 | >300 |

рость реакции. Ряд уменьшения скорости $R=Cl>H>OCH_3>CH_3$ в основном соответствует возрастающей электронодонорной способности заместителей; аномальное положение метоксигруппы перед метильной можно объяснить частичным протонированием первой в сильно кислой среде. При сравнении данных (см. табл. 1) для 2-(диметиламиноалкил)тио-3-арилхиназолонов-4 (III) и 2-этилтио-3-фенилхиназолона-4 (VII) — последний получен по методике [7] — видно, что введение диметиламиногруппы в *S*-алкильную цепь резко снижает скорость реакции. Причина этого, вероятно, заключается в том, что аминогруппа, взаимодействуя неподеленной парой электронов с реакционным центром, экранирует его и препятствует атаке молекулой воды:



Небольшие различия в скоростях реакции соединений III, имеющих различную структуру диметиламиноалкильной цепи, вероятно, связаны с различной степенью такого взаимодействия. Более подробное объяснение этих различий на основе имеющихся данных затруднено. Так как гидролиз соединений III протекает при сравнительно низкой скорости, то можно сделать вывод о том, что их солянокислые соли в водных растворах достаточно устойчивы и пригодны для биологических испытаний.

2-(Диметиламиноалкил)тио-хиназолоны-4 и их соли (см. табл. 2) синтезировали по следующим методикам.

**2-(Диметиламиноалкил)тио-3-арилхиназолоны (III).** Растворяли 0,02 М 2-тио-3-арилхиназолона-4 (I), полученного по [8], в 25 *мл* воды с 0,05 М KOH и приливали раствор 0,02 М диметиламиноалкилхлорида (II) в 25 *мл* воды. Выдерживали 1—2 *ч* при комнатной температуре; выпавший осадок (III) отфильтровывали, сушили и кристаллизовали из гептана или 50%-ного водного этилового спирта. Выход 65—80%. Получили бесцветные кристаллические вещества, не растворимые в воде и хорошо растворимые в органических растворителях.

**Гидрохлориды 2-(диметиламиноалкил)тио-3-арилхиназолонов-4 (IV).** В 50 *мл* сухого бензола растворяли 0,02 М основания III и через раствор пропускали газообразный HCl. Выпавший осадок отфильтровывали, сушили и кристаллизовали из *н*-бутанола. Выход 80—85%. Получили бесцветные кристаллические вещества, растворимые в воде.

**Кислотный гидролиз 2-(диметиламиноэтил)тио-3-фенилхиназолона-4.** Растворяли 1 *г* соединения III 1а в 20 *мл* HCl в соотношении 1:1 и кипятили 2 *ч*. Выпавший осадок отфильтровывали, сушили и кристаллизовали из спирта. Полученный продукт V с т. пл. 272—273° не дает депрессии в смешанной пробе с 3-фенилхиназолиндионом-2,4, полученным из антраниловой кислоты с фенилизоцианатом. После упаривания фильтрата реакционной массы выделяли гидрохлорид β-диметиламиноэтилмеркаптана (VI) — бесцветные кристаллы с т. пл. 155—156°.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 34,1; | H 8,5; | S 22,6 |
| $C_4H_{23}SNCl$. | Вычислено, %; | C 33,9; | H 8,4; | S 22,6 |

В щелочном растворе продукт дает фиолетовое окрашивание с нитропруссидом натрия (качественная реакция на меркаптогруппу).

**Определение относительных скоростей гидролиза соединений III.** Навеску $5 \cdot 10^{-5}$ М соединения III растворяли в 25 *мл* ледяной уксусной кислоты, раствор термостатировали при 98° и к нему приливали 25 *мл* 0,6 н. раствора $H_2SO_4$ при 98°, далее реакцию проводили при этой температуре. Первую пробу отбирали сразу же после начала реакции, а последующие — через постепенно увеличивающиеся интервалы времени. Пробу объемом 1 *мл* разбавляли 20 *мл* воды при 20° и замеряли оптическую

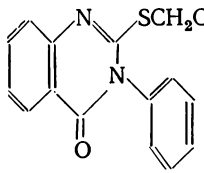
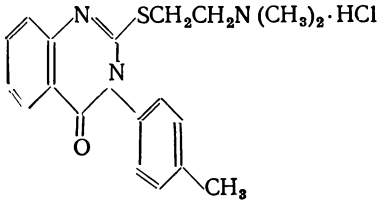
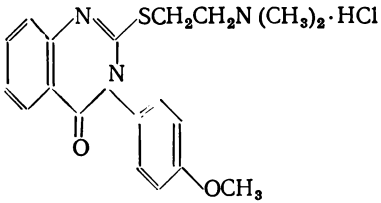
Таблица 2

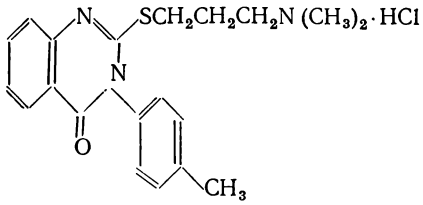
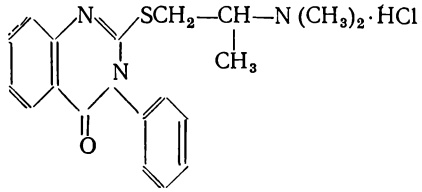
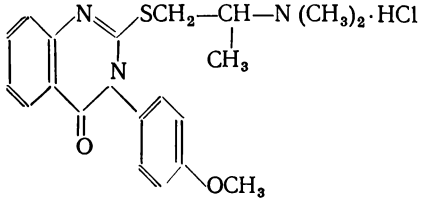
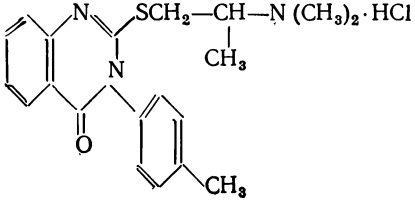
**Состав и температура плавления 2-(диметиламиноалкил)тио-хиназолонов-4 и их солей**

| № соединения | *T*. пл., °C | Брутто-формула | Найдено, % | | | | | Вычислено, % | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | C | H | N | S | Cl | C | H | N | S | Cl |
| III 1а | 95—96 | $C_{18}H_{19}ON_3S$ | 66,2 | 5,8 | 13,0 | 9,9 | — | 66,5 | 5,8 | 12,9 | 9,3 | — |
| III 1б | 90—91 | $C_{19}H_{21}ON_3S$ | 67,2 | 6,3 | 12,2 | 9,6 | — | 67,3 | 6,2 | 12,4 | 9,4 | — |
| III 1в | 151—152 | $C_{19}H_{21}ON_3S$ | 67,5 | 6,3 | 12,5 | 9,2 | — | 67,3 | 6,2 | 12,4 | 9,4 | — |
| III 2а | 97—98 | $C_{19}H_{21}ON_3S$ | 67,6 | 6,0 | 12,5 | 9,6 | — | 67,4 | 6,2 | 12,4 | 9,4 | — |
| III 2б | 98—99 | $C_{20}H_{23}ON_3S$ | 67,8 | 6,4 | 12,0 | 9,0 | — | 68,0 | 6,5 | 11,9 | 9,1 | — |
| III 2в | 155—156 | $C_{20}H_{23}ON_3S$ | 67,9 | 6,5 | 12,0 | 9,3 | — | 68,0 | 6,5 | 11,9 | 9,1 | — |
| III 3а | 122—123 | $C_{19}H_{21}O_2N_3S$ | 64,7 | 6,0 | 11,7 | 9,3 | — | 64,4 | 5,9 | 11,8 | 9,0 | — |
| III 3б | 147—149 | $C_{20}H_{23}O_2N_3S$ | 65,0 | 6,2 | 11,4 | 8,7 | — | 65,1 | 6,3 | 11,4 | 8,6 | — |
| III 3в | 156—157 | $C_{20}H_{23}O_2N_3S$ | 65,1 | 6,4 | 11,2 | 8,0 | — | 65,1 | 6,3 | 11,4 | 8,6 | — |
| III 4а | 129—131 | $C_{18}H_{18}ON_3SCl$ | 59,2 | 5,0 | 11,3 | 9,2 | — | 59,6 | 5,0 | 11,6 | 8,9 | — |
| III 4б | 109—110 | $C_{19}H_{20}ON_3SCl$ | 60,8 | 5,4 | 10,9 | 8,9 | — | 61,1 | 5,4 | 11,2 | 8,6 | — |
| III 4в | 154—155 | $C_{19}H_{20}ON_3SCl$ | 61,4 | 5,4 | 11,0 | 8,1 | — | 61,1 | 5,4 | 11,2 | 8,6 | — |
| IV 1а | 239—240 | $C_{18}H_{20}ON_3SCl$ | — | — | — | — | 9,9 | — | — | — | — | 9,8 |
| IV 1б | 169—170 | $C_{19}H_{22}ON_3SCl$ | — | — | — | — | 8,5 | — | — | — | — | 9,4 |
| IV 1в | 231—232 | $C_{19}H_{22}ON_3SCl$ | — | — | — | — | 9,6 | — | — | — | — | 9,5 |
| IV 2а | 225—226 | $C_{19}H_{22}ON_3SCl$ | — | — | — | — | 9,4 | — | — | — | — | 9,4 |
| IV 2б | 201—202 | $C_{20}H_{24}ON_3SCl$ | — | — | — | — | 9,2 | — | — | — | — | 9,1 |
| IV 2в | 203—204 | $C_{20}H_{24}ON_3SCl$ | — | — | — | — | 9,3 | — | — | — | — | 9,1 |
| IV 3а | 226—227 | $C_{19}H_{22}O_2N_3SCl$ | — | — | — | — | 9,2 | — | — | — | — | 9,1 |
| IV 3б | 187—188 | $C_{20}H_{24}O_2N_3SCl$ | — | — | — | — | 8,5 | — | — | — | — | 8,8 |
| IV 3в | 131—133 | $C_{20}H_{24}O_2N_3SCl$ | — | — | — | — | 9,0 | — | — | — | — | 8,8 |

Таблица 3

**Токсичность и противолучевая активность производных β-меркаптоэтиламина**

| № соединения | Структурная формула | Мол. вес | Токсическая доза, *мМ/кг* | Противолучевая активность | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Вводимая доза, *мМ/кг* | Время введения, *мин* | Выживание, % |
| IV 1a |  | 361,9 | $СД_{50}=0,34$<br>$СД_{10}=0,29$ | 0,15<br>0,20 | 15<br>30<br>15<br>30 | 42; 8<br>0; 50<br>50<br>36 |
| IV 2a |  | 375,9 | >0,15 | 0,15 | 15<br>30 | 0; 17<br>0; 8 |
| IV 3a |  | 391,9 | 0,40 | 0,15<br><br><br><br>0,20 | 15<br>30<br>45<br>60<br>15<br>30<br>45<br>60 | 0<br>0<br>75<br>58<br>58<br>75; 83; 50<br>92; 67<br>33 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| IV 2б |  | 389,9 | >0,30 | 0,30 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| IV 1в |  | 375,9 | $СД_{50}=0,25$<br>$СД_{16}=0,18$ | 0,088 | 15<br>30 | 17<br>0 |
| IV 3в |  | 406,0 | $СД_{50}=0,199$<br>$СД_{16}=0,180$ | 0,09 | 15<br>30 | 0; 34<br>0; 0 |
| IV 2в |  | 389,9 | 0,2 | 0,1 | 15 | 0 |

плотность полученного раствора при $\lambda = 275$ *нм* на спектрофотометре СФ-4. По полученным данным строили график зависимости $D/D_0 \cdot 100\% = f(\tau)$ и по нему определяли величины $\tau_{0,1}$, $\tau_{0,2}$, $\tau_{0,3}$ и $\tau_{0,5}$ (см. табл. 1). Предварительную проверку подчиняемости закону Ламберта — Бера проводили определением оптических плотностей спиртовых растворов соединений III различных концентраций; графики $D = f(c)$ во всех случаях представляют собой прямые линии.

УФ-спектры соединений III снимали в спиртовых растворах на сектрофотометре Specord uv Vis.

### Биологические испытания

Хиназолинпроизводные β-меркаптоэтиламина исследовали на токсичность и противолучевую активность на мышах линии BALB и CBA.

**Токсичность** оценивали как по непосредственным проявлениям действия вещества после введения его в организм, так и по гибели животных в течение 3-недельного срока. Препараты в виде водных растворов (pH 5—7) вводили внутрибрюшинно в объеме 0,2 *мл*. Пробит-анализом определяли СД 84, СД 50, СД 16. На противолучевую активность вещества испытывали в дозе, соответствующей 1/2 СД 16.

Все хиназолинзамещенные β-меркаптоэтиламина при введении в организм вызывали резко выраженные судороги у животных. При больших дозах возникала судорожная готовность организма, которая реализовалась даже от звукового раздражения в судорожный припадок, сопровождающийся асфиксией и влекущий за собой гибель. Поэтому не всегда удавалось получить кривую смертности, позволяющую обрабатывать данные пробит-анализом. Для таких случаев в табл. 3 приведены наименьшие дозы веществ, вызывающие гибель животных. Для испытания противолучевой активности этих веществ использовали дозу, равную 1/2 минимальной токсичной.

**Противолучевую активность** определяли на мышах-самках линии BALB 3-месячного возраста весом 20 — 24 *г*, которые были облучены минимальной абсолютно летальной дозой (СД 100) гамма-лучей $^{60}Co$, составляющей для нашей популяции 710 *р*. Мощность дозы составляла 11 *р/мин*. Препараты вводили в количестве 0,09 — 0,3 *мМ/кг* за 15 — 60 *мин* до облучения (см. табл. 3). Эффект оценивали по выживаемости животных за 30 дней наблюдения.

Из испытанных соединений (см. табл. 3) два дали хорошие результаты. Хлоргидрат 2-(диметиламиноэтил) тио-3-фенилхиназолон-4 (IУ 1а), имеющий свободную фенильную группу, был введен в организм мыши за 15 и 30 *мин* до облучения в дозе 0,15 *мм/кг*. Он защитил 42 и 50% животных, соответственно. Примерно тот же эффект дает доза 0,2 *мМ/кг*. Наилучшие результаты дал хлоргидрат 2-(β-диметиламиноэтил) тио-3*п*-метоксифенилхиназолон-4 (IУ3а).

В дозе 0,15 *мМ/кг* максимум защиты (75 и 58%) наблюдали при более раннем применении препарата (за 45 и 60 *мин* до облучения). В дозе 0,2 *мМ/кг* противолучевая активность проявилась при введении за 15 *мин* (выжило 58%), была значительной при введении за 30 *мин* (50, 75 и 83%) и наивысшей — за 45 *мин* до облучения (92%). Дальнейшее увеличение интервала ведет к снижению эффекта. Из-за малой мощности дозы облучение длится более часа. Следовательно, защитное действие вещества проявляется весьма продолжительное время. Остальные препараты оказались не эффективными.

Сопоставляя химические структуры препаратов, можно полагать, что противолучевой эффект обусловлен как аминотиольной цепью, так и заместителем в фенильном радикале хиназолона. Наилучшим из данной группы веществ является сочетание тиольной цепи с метоксигруппой в *п*-положении фенильного остатка. Удлинение или разветвление аминотиольной цепи увеличивает токсичность препаратов и снижает их противолучевой эффект. Заместитель — H или — $CH_3$ снижает эффективность соединений.

## Выводы

1. При испытании на противолучевую эффективность ряда арилзамещенных хиназолинпроизводных меркаптоалкиламинов наиболее эффективным оказался хлоргидрат 2-(β-диметиламиноэтил) тио-3*п*-метоксифенилхиназолон-4 (IУ 3а), который защищает до 92% животных. Он содержит в *п*-положении фенильного заместителя хиназолона группу — $OCH_3$.

2. Увеличение длины аминотиольной цепи и ее разветвление вело в наших экспериментах к утрате протекторных свойств.

3. Предложен предположительный механизм протекторного действия, заключающийся в гидролитическом расщеплении веществ с освобождением аминотиола в организме.

## ЛИТЕРАТУРА


1. В. Г. Яшунский. Усп. хим., 1975, **44**(3), 531.
2. З. Бак. Химическая защита от ионизирующей радиации. Перев. с англ. М., Атомиздат, 1968.
3. L. Field, P. N. Giles. J. Org. Chem., 1971, **36**(2), 309.
4. Ф. Ю. Рачинский, П. Г. Жеребченко, Я. Л. Костюковский, Н. М. Славачевская, В. Г. Владимиров, Ю. Е. Стрельников, Л. В. Павлова, Г. И. Пустошкин. Синтез, изучение свойств и применение детоксицирующих соединений. Тезисы докладов II Уральской конференции. Свердловск, 1971, стр. 1.
5. А. В. Ельцов, Х. Л. Муравич-Александр, Л. М. Ротштейн, Г. Н. Алексеева, А. М. Русанов. Там же, стр. 11.
6. Г. Н. Крутовских, М. Б. Колесова, А. М. Русанов, Л. П. Вартанян, М. Г. Шагоян. Р. ж., Хим., 1975, 4, 21.
7. H. N. McCoy. Ber., 1897, 30(12), 1682.
8. G. S. Mewada, G. R. Dave, C. C. Amin. J. Sci Ind. Research, 1961, B20, 299 (CA56 : 2448 i).

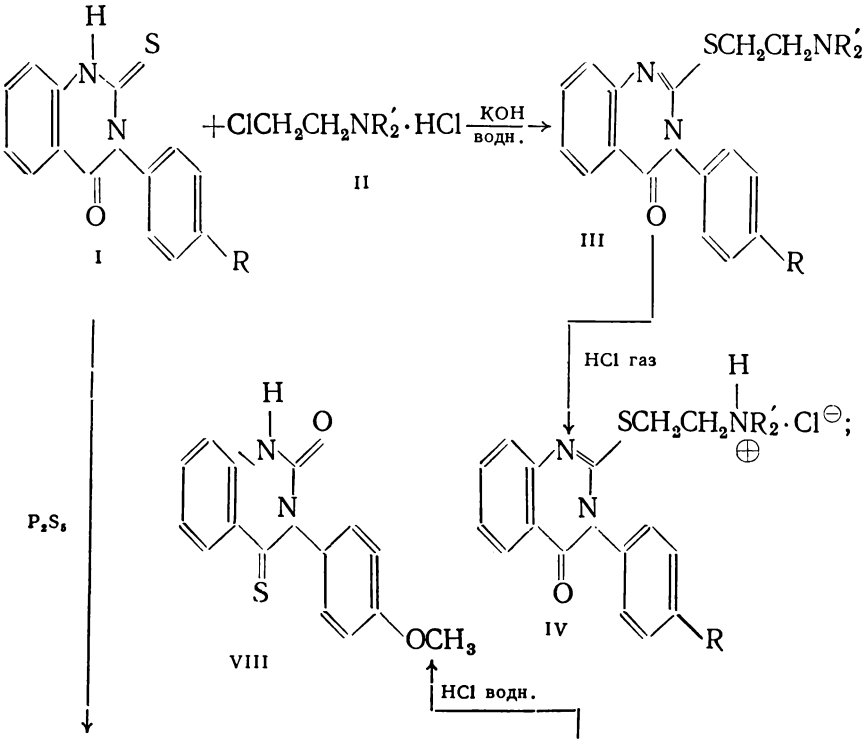
*Б. В. Голомолзин, И. П. Трегубенко,*
*Э. А. Тарахтий, Л. Н. Расина, О. Н. Тихонова*

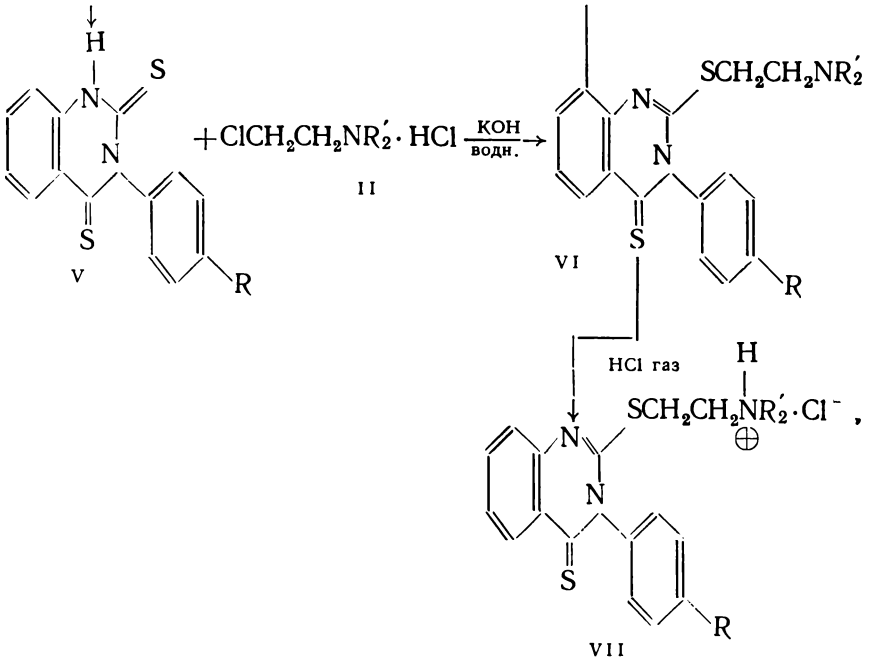
# РАДИОЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА 2-(β-ДИАЛКИЛАМИНОЭТИЛ)ТИОЗАМЕЩЕННЫХ ХИНАЗОЛОНОВ

Цель настоящей работы — синтезировать производные β-меркаптоэтиламина с остатком замещенного хиназолина у S-атома и изучить токсичность и радиозащитные свойства полученных соединений.

## Синтез и химические свойства веществ

Синтез производных β-меркаптоэтиламина проводили по следующей схеме:






где R: 1) H, 2) Cl, 3) $OCH_3$, 4) $CH_3$;

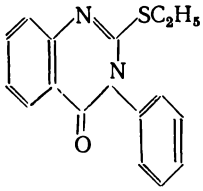
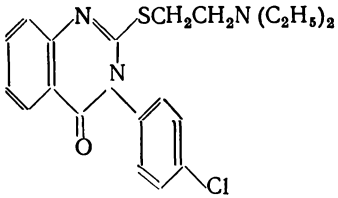
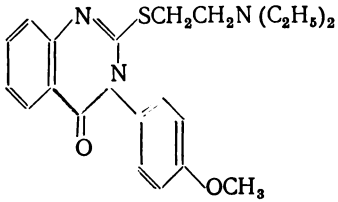
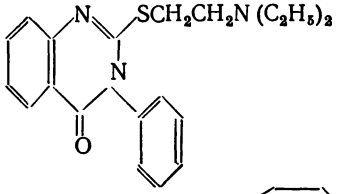
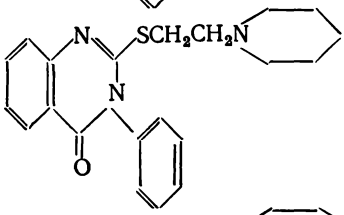
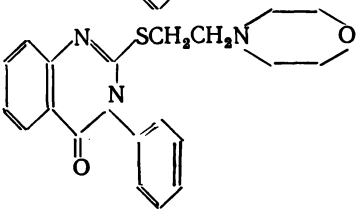
$NR'_2$: а) $N(C_2H_5)_2$, б) —N⟨⟩, в) —N⟨⟩O

2-Тио-3-арилхиназолоны-4 (I) при обработке пятисернистым фосфором в кипящем *о*-дихлорбензоле образуют 3-арилхиназолиндитионы-2,4 (V). Алкилирование соединений I и V β-диэтиламиноэтилхлоридом (IIа), β-*N*-пиперидилэтилхлоридом (IIб) и β-*N*-морфолилэтилхлоридом (IIв) в водно-щелочной среде дает 2-(β-диалкиламиноэтил) тио-3-арилхиназолоны-4 (III) и их 4-тиоаналоги (VI). Обработкой целевых продуктов III и VI газообразным хлористым водородом в бензольном растворе получены соответственно их водорастворимые солянокислые соли (IV и VII), пригодные для биологических испытаний радиозащитного действия.

Соединения III имеют УФ-спектры, сходные со спектрами 2-диметиламиноалкилтио-3-арилхиназолонов-4 [1]: $\lambda_{max} = 220 \div 224$ *нм*, $\lg \varepsilon = 4{,}65 \div 4{,}75$; $\lambda_{max} = 275 \div 280$ *нм*, $\lg \varepsilon = 4{,}10 \div 4{,}25$; $\lambda_{max} = 315 \div 318$ *нм*, $\lg \varepsilon\, 3{,}70 \div 3{,}80$. В работе [1] показана способность 2-диалкиламиноалкилтио-3-арилхиназолонов-4 в условиях кислотного гидролиза расщепляться с образованием 3-арилхиназолиндионов-2,4 и аминотиолов, что является предпосылкой их радиозащитной активности. В связи с этим мы определяли относительные скорости кислотного гидролиза соедине-

Таблица 1

**Относительная скорость кислотного гидролиза 2-(β-диалкиламиноэтил)тио-3-арилхиназолонов-4 (III), *мин***

| № соединения | Структурная формула | $\tau_{0,1}$ | $\tau_{0,2}$ | $\tau_{0,3}$ | $\tau_{0,5}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| IX |  | 12 | 24 | 35 | 65 |
| III 2а |  | 40 | 97 | 162 | >300 |
| III 3а |  | 50 | 128 | 258 | >300 |
| III 1а |  | 10 | 28 | 103 | >300 |
| III 1б |  | 18 | 42 | 107 | >300 |
| III 1в |  | 33 | 75 | 141 | >300 |

ний III. Реакцию проводили в смеси равных объемов 0,6 н. серной и ледяной уксусной кислот, концентрацию исходного вещества в ходе реакции определяли по оптической плотности раствора при $\lambda_{max}=275$ *нм* (подробная методика изложена в [1]). В табл. 1 приведены величины $\tau_{0,1}\tau_{0,2}\tau_{0,3}$ и $\tau_{0,5}$ — время уменьшения исходной концентрации на 10, 20, 30 и 50% соответственно, которое служит мерой относительной скорости реакции. Для сравнения представлены данные по гидролизу 2-этилтио-3-арилхиназолона (IX), полученного по методике [3].

Все 2-(β-диалкиламиноэтил) тио-3-арилхиназолоны-4 (III) гидролизуются значительио медленнее, чем 2-этилтио-3-фенилхиназолон-4, не содержащий аминогруппы в боковой цепи. Это можно объяснить взаимодействием аминогруппы с реакционным центром — положительно заряженным углеродным атомом в 2-положении протонированного хиназолиного кольца; такое взаимодействие снижает ⊕ — заряд на реакционном центре и затрудняет его атаку молекулой воды. Аналогичное явление наблюдалось и у 2-диметиламиноалкилтио-3-арилхиназолонов-4 [1].

Небольшие различия в скоростях гидролиза соединений III 1а, III 1б и III 1в, имеющих по-разному замещенные боковые аминогруппы, возможно, связаны с пространственно обусловленными различиями во взаимодействии аминогрупп с реакционным центром. Однако более точная интерпретация этих различий на основе имеющегося материала затруднительна.

Соединения VI в кислой среде гидролизуются подобно их 4-кислородным аналогам III: при кипячении в 6 н. соляной кислоте вещества VI 3а выделен 3-*п*-метоксифенил-4-тиохиназолон-2 (VIII). Однако определить относительные скорости гидролиза соединений VI приведенным выше спектрофотометрическим методом невозможно из-за недостаточно большого различия в интенсивностях электронных спектров соединений VI и VIII.

Соединения III—VIII (табл. 2) синтезировали по следующей методике.

**3-Арилхиназолиндитионы-2,4 (V).** В 70 *мл* *о*-дихлорбензола в течение 2 *ч* кипятили 0,02 М соединения I, полученного по методике [2], и 0,02 М пятисернистого фосфора. Реакционную массу фильтровали в горячем состоянии. После охлаждения выпавший осадок продукта V отфильтровывали, сушили и кристаллизовали из *н*-бутанола. Получили оранжево-красные иглы, трудно растворимые в воде и большинстве органических растворителей.

**2-(β-Диалкиламиноэтил) тио-3-арилхиназолоны-4 (III),** их **4-тиоаналоги (VI)** и **гидрохлориды (IV и VII)** получены из соединений I и V по методикам, описанным в работе [1].

Соединения III и VI — кристаллические вещества, не растворимые в воде и хорошо растворимые в большинстве органических растворителей, их гидрохлориды IV и VII хорошо растворимы в воде. В отличие от бесцветных III и IV их 4-тиоаналоги VI

Таблица 2

**Состав и температура плавления 2-(β-диалкиламиноэтил)тио-хиназолоновтионов-4 и их солей**

| № соединения | Т. пл., °С | Брутто-формула | Найдено, % | | | | | Вычислено, % | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | C | H | N | S | Cl | C | H | N | S | Cl |
| III 1а | 83—84 | $C_{20}H_{23}N_3OS$ | 67,7 | 6,6 | 11,6 | 9,1 | — | 68,0 | 6,5 | 11,9 | 9,0 | — |
| III 1б | 103—104 | $C_{21}H_{23}N_3OS$ | 69,1 | 6,3 | 11,4 | 9,0 | — | 69,3 | 6,0 | 11,4 | 8,8 | — |
| III 1в | 129—130 | $C_{20}H_{21}N_3O_2S$ | 65,3 | 5,5 | 11,4 | 9,0 | — | 65,4 | 5,7 | 11,4 | 8,7 | — |
| III 2а | 107—108 | $C_{20}H_{22}N_3OSCl$ | 62,5 | 5,9 | 10,5 | 8,0 | — | 62,0 | 5,7 | 10,8 | 8,3 | — |
| III 2б | 150—151 | $C_{21}H_{22}N_3OSCl$ | 62,4 | 5,8 | 10,3 | 8,4 | — | 63,3 | 5,5 | 10,5 | 8,1 | — |
| III 2в | 183—185 | $C_{20}H_{20}N_3O_2SCl$ | 60,1 | 5,2 | 10,2 | 7,5 | — | 59,8 | 5,0 | 10,4 | 7,9 | — |
| III 3а | 120—121 | $C_{21}H_{25}N_3O_2S$ | 65,6 | 6,8 | 10,7 | 8,4 | — | 65,8 | 6,5 | 10,9 | 8,4 | — |
| III 3б | 159—160 | $C_{22}H_{25}N_3O_2S$ | 66,5 | 6,2 | 10,5 | 9,1 | — | 66,8 | 6,3 | 10,6 | 8,1 | — |
| III 3в | 162—163 | $C_{21}H_{23}N_3O_3S$ | 63,2 | 6,1 | 10,6 | 8,1 | — | 63,5 | 5,8 | 10,6 | 8,1 | — |
| IV 1а | 201—203 | $C_{20}H_{24}N_3OSCl$ | — | — | — | — | 10,0 | — | — | — | — | 9,1 |
| IV 1б | 272—273 | $C_{21}H_{24}N_3OSCl$ | — | — | — | — | 8,8 | — | — | — | — | 8,8 |
| IV 1в | 238—239 | $C_{20}H_{22}N_3O_2SCl$ | — | — | — | — | 9,0 | — | — | — | — | 8,8 |
| IV 2а | 165—167 | $C_{20}H_{24}N_3OSCl_3$ | — | — | — | — | 22,5 | — | — | — | — | 23,2 |
| IV 2б | 245—246 | $C_{21}H_{23}N_3OSCl_2$ | — | — | — | — | 16,7 | — | — | — | — | 16,3 |
| IV 2в | 220—222 | $C_{20}H_{21}N_3O_2SCl_2$ | — | — | — | — | 16,3 | — | — | — | — | 16,2 |
| IV 3а | 183—185 | $C_{21}H_{27}N_3O_2SCl_2$ | — | — | — | — | 16,5 | — | — | — | — | 15,6 |
| IV 3б | 241—242 | $C_{22}H_{26}N_3O_2SCl$ | — | — | — | — | 8,3 | — | — | — | — | 8,2 |
| IV 3в | 245—246 | $C_{21}H_{24}N_3O_3SCl$ | — | — | — | — | 10,6 | — | — | — | — | 8,2 |
| VI 2а | 71—72 | $C_{20}H_{22}N_3S_2Cl$ | 59,5 | 5,6 | — | 15,6 | — | 59,5 | 5,5 | — | 15,9 | — |
| VII 1а | 213—215 | $C_{20}H_{24}N_3S_2Cl$ | 58,4 | 5,7 | 9,6 | 15,2 | 10,0 | 59,1 | 5,9 | 10,3 | 15,8 | 8,8 |
| VII 2а | 201—202 | $C_{20}H_{23}N_3S_2Cl_2$ | — | — | — | — | 16,2 | — | — | — | — | 16,1 |
| VII 3а | 208—210 | $C_{21}H_{26}N_3OS_2Cl$ | 57,0 | 6,2 | — | 13,8 | 9,2 | 57,9 | 6,0 | — | 14,7 | 8,2 |
| V 1 | 254—256 | $C_{14}H_{10}N_2S_2$ | 62,4 | 3,8 | 10,4 | 24,0 | — | 62,3 | 3,7 | 10,4 | 23,7 | — |
| V 2 | 242—244 | $C_{14}H_9N_2S_2Cl$ | 55,4 | 3,1 | — | 21,3 | — | 55,1 | 3,0 | — | 21,0 | — |
| V 3 | 278—279 | $C_{15}H_{12}N_2OS_2$ | 60,1 | 4,3 | 9,7 | 21,3 | — | 60,0 | 4,0 | 9,4 | 21,3 | — |
| VIII | — | $C_{15}H_{12}N_2O_2S$ | 63,2 | 4,2 | 10,0 | 10,7 | — | 63,4 | 4,2 | 9,9 | 11,2 | — |

и VII имеют ярко-желтую окраску. УФ-спектры соединений III и VI были сняты в спиртовых растворах на спектрофотометре Specord uv vis.

### Биологические испытания

Хиназолон- и хиназолинтионпроизводные β-меркаптоэтиламина (IV и VII) изучали на линейных мышах BALB и CBA (табл. 3).

**Токсичность.** Данными пробит-анализа установлено, что СД 50 при внутрибрюшинном введении препаратов составляет 0,3—0,7 *мМ/кг*. Субтоксические дозы вызывают судороги или судорожную готовность животных, длящуюся около 0,5 *ч*. Более низкие дозы приводят к состоянию резкой возбудимости в течение нескольких часов. На противолучевую активность испытывали дозы, составляющие 1/2 СД 16 или 1/2 минимальной токсической (см. [1]).

**Противолучевую активность** определяли на мышах-самках 3-месячного возраста линии BALB, которых облучали минимальной абсолютно смертельной дозой гамма-лучей $^{60}$Co, составляющей 710 *р* (СД 100). Препараты в виде водных растворов при pH 5—7 вводили внутрибрюшинно в дозах 0,04—0,35 *мМ/кг* за 15—60 *мин* до облучения. Эффект оценивали по выживаемости животных к 30-му дню наблюдения.

Из испытанных соединений (см. табл. 3) пять веществ имели хорошие защитные свойства. Наиболее эффективным оказался дигидрохлорид 2-(β-диэтиламиноэтил) тио-3-фенилхиназолон-4 (IV 2а). Максимальная защита выявлена при введении 0,2 и 0,35 *мМ/кг* препарата за 30 *мин* до облучения. Если в хиназолиновом остатке кислород замещен серой (VII 2а), то эквимолярная доза вещества дает ту же защиту при введении за 15 *мин*, а в более отдаленные сроки его эффективность резко падает. При введении метоксигруппы в *п*-положение фенильного остатка (IV 3а) понижается растворимость вещества; максимально растворимая доза в 0,2 *мМ/кг*, иньецированная за 30 *мин* до облучения, дает высокий эффект (75%). Длительность действия вещества нами не прослежена. Соединения VII 1а и IV 1а, у которых фенильная группа не имеет заместителя в *п*-положении, не эффективны. Хиназолинтион (VII 3а) не растворим. Слабый эффект выявлен у вещества, содержащего метильную группу в *о*-положении фенильного остатка (IV 4а). Не активны соединения, в аминотиольный остаток которых вместо аминогруппы включен пиперидин (IV 1б и IV 3б).

Предполагалось, что в результате синтеза отщепление в организме аминотиольной группы обеспечит противолучевой эффект, а хиназолин-фенильный остаток будет способствовать проникновению вещества в клетку. Действительно, как хиназолон-, так и хиназолинтионпроизводные вызывали судорожное состояние и судорожную готовность животных, что характерно для больших количеств аминотиолов. Как известно [4, 5], защитный эффект

Таблица 3

**Токсичность и противолучевая активность веществ**

| № соединения | Структурная формула | Мол. вес | Токсическая доза, *мМ/кг* | Противолучевой эффект | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Вводимая доза, *м/Мкг* | Время введения, *мин* | Выживание, % |
| VII 1a | $SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \cdot HCl$ | 406 | >0,25 | 0,25 | 15 | 0 |
| | | | | | 30 | 0 |
| | | | | 0,20 | 15 | 8 |
| | | | | | 30 | 25 |
| IV 1a | $SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \cdot HCl$ | 389,9 | 0,625 | 0,2 | 15 | 0 |
| | | | | | 30 | 0 |
| VII 2a | $SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \cdot HCl$ | 440,4 | 0,45 | 0,2 | 15 | 58 |
| | | | | | 30 | 50 |
| | | | | | 45 | 17 |
| IV 2a | $SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \cdot 2HCl$ | 460,8 | $СД_{50}$= =0,485 | 0,35 | 15 | 14 |
| | | | | | 30 | 43; 67; 66 |
| | | | $СД_{16}$= =0,470 | | 45 | 56; 50 |
| | | | | 0,20 | 15 | 58 |
| | | | | | 30 | 84 |
| VII 3a | $SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \cdot HCl$ | 436,0 | Не растворимо | | | |

Продолжение табл. 3

| № соединения | Структурная формула | Мол. вес | Токсическая доза, *мМ/кг* | Противолучевой эффект | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Вводимая доза, *мМ/кг* | Время введения, *мин* | Выживание, % |
| IV 3а | $SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \cdot 2HCl$ | 460,4 | >0,2 | 0,2 | 15<br>30 | 30<br>75 |
| IV 4а | $SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \cdot HCl$ | 404,0 | $СД_{50}$= =0,30<br>$СД_{16}$= =0,26 | 0,15<br><br><br><br>0,04 | 15<br>30<br>45<br>60<br>15<br>30 | 17<br>33; 50<br>33<br>0<br>17<br>0 |
| IV 4б | $SCH_2CH_2N$ ⟨⟩ $\cdot HCl$ | 416,0 | 0,05 | 0,025 | 15 | 58 |
| IV 1б | $SCH_2CH_2N$ ⟨⟩ $\cdot HCl$ | 401,0 | $СД_{50}$= =0,30<br>$СД_{16}$= =0,25 | 0,125 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| IV 3б | $SCH_2CH_2N$ ⟨⟩ $\cdot HCl$ | 432 | 0,4 | 0,197 | 15<br>30 | 0<br>8 |

последних не продолжителен, максимум защиты отмечается при введении за 15—30 *мин* до облучения и вещества в виде продуктов распада быстро выводятся из организма. Противолучевой эффект испытанных нами хиназолин- и хиназолинтионпроизводных β-меркаптоэтиламина продолжался длительное время, в особенности если учесть длительность самого облучения, о чем было сказано выше [1].

Сопоставляя результаты кислотного гидролиза веществ и их противолучевой эффект на мышах, можно видеть следующее: чем медленнее отщепляется аминотиол, тем длительнее проявляется защитная активность. Скорость гидролиза зависит не только от заместителя в фенильном остатке, но и от заместителя у азота в аминотиоле. Она больше, когда имеется сочетание $OCH_3^-$ в хиназолине и $C_2H_5$ — в аминотиоле. Однако в протекторном отношении не обнаружено разницы между $C_2H_5$ или $CH_3^-$ в аминотиоле. Наилучшую защиту дало вещество IV 3а, имеющее в *п*-положении метоксигруппу, и вещества VII 2а и IV 2а, имеющие в *п*-положении хлор.

На основании данных кислотного гидролиза можно считать, что действительно хиназолинфенильная группировка предотвращает быстрый распад молекулы в организме, благодаря чему эффект проявляется дольше, чем у самого меркаптоэтиламина [4]. Кроме того, эта группировка, вероятно, способствует проникновению молекулы в клетку, где, по-видимому, и происходит отщепление аминотиольной цепи, которая обеспечивает противолучевой эффект по механизмам, уже описанным в литературе [4, 5].

## Выводы

1. При испытании на токсичность и противолучевую активность ряда арилзамещенных хиназолон- и хиназолинтионпроизводных β-меркаптоэтилдиалкиламинов наиболее эффективными оказались 3-фенилхиназолон- и 3-фенилхиназолонтионзамещенные β-меркаптоэтиламина, имеющие в фенильной группе в *п*-положении $OCH_3$- и Cl-заместители.

2. Замещение диэтиламиногруппы на пиперидин в аминотиольной цепи лишает вещество протекторной активности.

3. Установлена корреляция противолучевой активности in vivo и скорости гидролиза веществ in vitro: противолучевая активность тем дольше и выше, чем медленнее гидролизуется вещество.

4. Предполагается, что действие синтезированных препаратов обусловлено аминотиолом, образующимся в результате гидролитического расщепления веществ в организме.

5. Преимущество исследуемых препаратов перед β-меркаптоэтиламином заключается в продолжительности их действия, которое, вероятно, обусловлено медленным отщеплением свободного аминотиола в клетках организма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин, И. Я. Постовский, В. И. Филякова, Э. А. Тарахтий. Статья в наст. сб., стр. 3.
2. G. S. Mewada, G. R. Dave, C. C. Amin. J. Sci. Ind. Research, 1961, 20B; 299 (CA 56 : 2448i).
3. H. N. McCoy. Ber., 1897, 30(12), 1682.
4. Е. Ф. Романцев. Радиация и химическая защита. М., Атомиздат, 1968.
5. З. Бак. Химическая защита от ионизирующей радиации. Перев. с англ. М., Атомиздат, 1968.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*И. Я. Постовский, А. П. Новикова,*
*Л. А. Чечулина, Л. Н. Любомудрова*

# АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ И ПРОТИВОЛУЧЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОСНОВАНИЙ МАННИХА В РЯДУ ПИРОГАЛЛОЛА И ОКСИГИДРОХИНОНА

Одной из важнейших функций фенольных соединений в тканях растений и животных является антиокислительный эффект. Наряду с водорастворимыми антиоксидантами (аскорбиновой кислотой, цистеином, глутатионом и др.) имеются жирорастворимые антиоксиданты фенольной структуры (витамины К, Е и убихиноны), которые предотвращают окисление тканевых липидов.

Известно [1, 2], что количество и состояние тканевых антиоксидантов определяют радиочувствительность тканей. Введением фенолов в организм можно пополнить в нем запасы эндогенных антиоксидантов и таким образом вызвать противолучевой эффект.

В поисках новых противолучевых соединений нами получена серия аминометильных производных в ряду трехатомных фенолов — пирогаллола и оксигидрохинона. Опубликованы данные о противолучевой активности 4-ацетилпроизводных пирогаллола [3, 4], сведений о биологической активности и ингибирующих свойствах оснований Манниха и других аминометильных производных фенолов не имеется.

Синтезированные нами основания Манниха обладают амфотерными свойствами, поэтому несомненный интерес представляло изучение противолучевой и антиокислительной активности этих производных.

## Синтез оснований Манниха

Основания Манниха получены с высокими выходами при нагревании эквимолекулярных количеств соответствующего фенола (альдегида или оксима альдегида), амина и формальдегида в спиртовом растворе [5]. Они представляют собой бесцветные кристаллические продукты, хорошо растворимые в воде и органических растворителях.

**4-Пропионил-6-морфолинометилпирогаллол (VII)** получали при нагревании 1,82 *г* (0,01 *М*) пропионилпирогаллола, 0,87 *г* (0,01 *М*) морфолина и 0,8 *мл* 40%-ного раствора формалина в 5 *мл* этанола на водяной бане в течение 10 *мин*. Выпавший при охлаждении осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали дважды из этанола. Выход вещества 2,1 г (70%); т. пл. 139—141°.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 59,7; | H 6,7; | N 4,9. |
| $C_{14}H_{19}NO_5$. | Вычислено, %: | C 59,7; | H 6,8; | N 4,9. |

**4-Пропионил-6-пиперидинометилпирогаллол (VIII)** получали аналогично VII. Выход 75%; т. пл. 155—157°.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 64,8; | H 7,8; | N 4,9. |
| $C_{15}H_{21}NO_4$. | Вычислено, %: | C 64,5; | H 7,6; | N 5,0 |

Синтез остальных соединений приводится в работе [5].

## Изучение антиокислительной активности веществ

Исследование проводили по методике [6] на жировой модели. Навеску $1 \cdot 10^{-3}$ *М* исследуемого вещества растворяли при обычной температуре в 10 *г* олеиновой кислоты, затем через полученный раствор, перемешивая его, при 40° С пропускали кислород в течение 6 *ч*. Для каждого вещества определяли накопление перекисей по 5 точкам в двух параллельных образцах. Содержание перекисей *D*, %, определяли иодометрическим титрованием и вычисляли по формуле

$$D = \frac{1000 \cdot в \cdot N}{a},$$

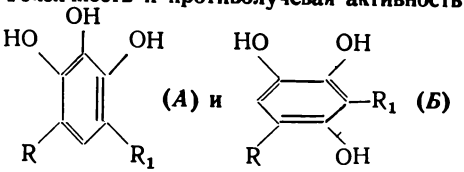
где *N* — нормальность раствора $Na_2S_2O_3$;
*b* — расход раствора $Na_2S_2O_3$, *мл*;
*a* — навеска пробы, *г*.

Результаты изучения приведены графически в сравнении с антиокислительной активностью пирогаллола и оксигидрохинона (см. рисунок). Введение аминометильных группировок не снижает, а в некоторых случаях повышает антиокислительные свойства соединений (см. рисунок, *в*). В условиях опыта все основания Манниха показали антиокислительную активность.

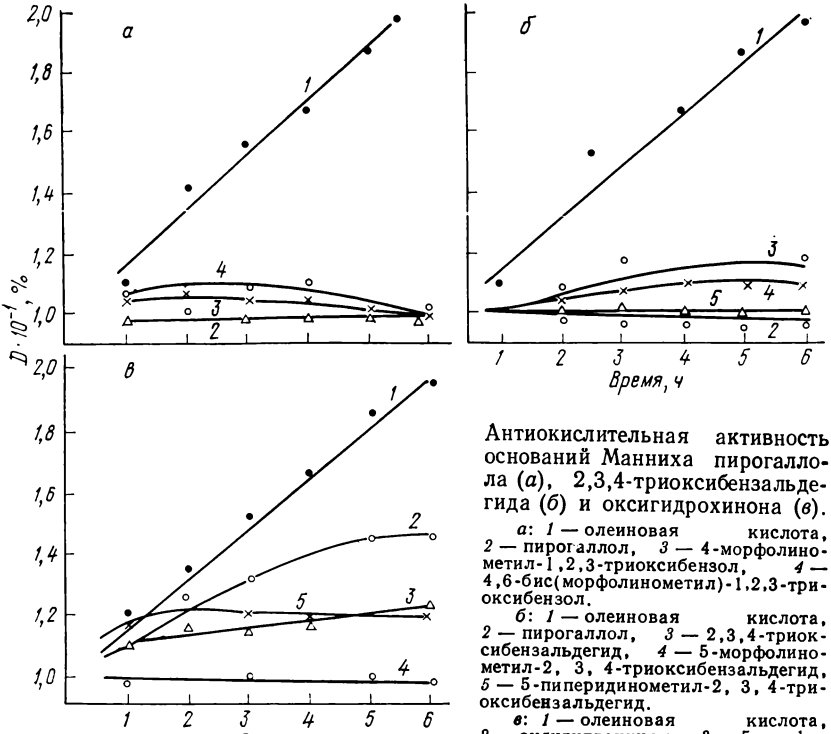
## Биологические испытания

Исследование токсичности и противолучевой активности оснований Манниха проводили на мышах линии BALB (самках 3-месячного возраста) по методике [7].

**Токсичность и противолучевая активность оснований Манниха**




| № соединения | R | $R_1$ | Токсическая доза, *мг/кг* | Противолучевая активность: Вводимая доза, *мг/кг* | Время введения до облучения, *мин* | Выживание, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **А** | | | | |
| I | $CH_2N$ O | H | >450 | 220 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| II | CH=NOH | H | 290 | 170 | 15<br>30 | 33<br>33 |
| III | CHO | $CH_2N$ O | >500 | 250 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| IV | CHO | $CH_2N$ | 200 | 100 | 15 | 0 |
| V | CH=NOH | $CH_2N$ O | 375 | 225 | 15<br>30 | 27<br>27 |
| VI | CH=NOH | $CH_2N$ | 90 | 75 | 15<br>30 | 18<br>18 |
| VII | $CH_3CH_2CO$ | $CH_2N$ O | 280 | 210 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| VIII | $CH_3CH_2CO$ | $CH_2N$ | 140 | 112 | 15<br>30 | 8<br>27 |
| | | **Б** | | | | |
| IX | $CH_2N$ O | $CH_2N$ O | 58 | 49 | 15 | 0 |
| X | $CH_2N$ O | H | 56 | 45 | 5—8<br>15<br>30 | 0<br>25<br>58 |
| XI | CHO | $CH_2N$ | 176 | 100 | 15 | 0 |
| XII | CHO | $CH_2N$ O | 575 | 250<br>287 | 15<br>15<br>30 | 41<br>0<br>50 |




Антиокислительная активность оснований Манниха пирогаллола (*а*), 2,3,4-триоксибензальдегида (*б*) и оксигидрохинона (*в*).

*а*: *1* — олеиновая кислота, *2* — пирогаллол, *3* — 4-морфолинометил-1,2,3-триоксибензол, *4* — 4,6-бис(морфолинометил)-1,2,3-триоксибензол.

*б*: *1* — олеиновая кислота, *2* — пирогаллол, *3* — 2,3,4-триоксибензальдегид, *4* — 5-морфолинометил-2, 3, 4-триоксибензальдегид, *5* — 5-пиперидинометил-2, 3, 4-триоксибензальдегид.

*в*: *1* — олеиновая кислота, *2* — оксигидрохинон, *3* — 5-морфолинометил-1, 2, 4-триоксибензол, *4* — 3, 5-бис(морфолинометил)-1, 2, 4-триоксибензол, *5* — 6-морфолинометил-1, 2, 4-триоксибензальдегид.

**Токсичность.** Соединения в ряду пирогаллола менее токсичны, чем в ряду оксигидрохинона. Введение пиперидинометильной группы повышает токсичность; морфолинометильные производные менее токсичны (см. таблицу).

**Противолучевая активность.** Максимально переносимую дозу препарата вводили внутрибрюшинно за 5—30 *мин* до облучения минимальной абсолютно смертельной дозой $\gamma$-лучей $^{60}Co$, составляющей для использованной линии животных 710 *р* ($СД_{100/30}$). Время наблюдения противолучевой активности 30 дней.

Наибольший интерес представляют соединения, содержащие морфолинометильную группу (см. таблицу). Два соединения этой серии (X, XII) проявляют значительную противолучевую активность (50—58% выживания), остальные — слабую или не проявляют ее. Соединения, содержащие оксимную группировку (II, V, VI), имеют одинаковый противолучевой эффект при введении и за 15, и за 30 *мин* до облучения, т. е. обладают пролонгированным действием.

Таким образом, проведенное исследование показало, что все полученные основания Манниха как в ряду пирогаллола, так и оксигидрохинона имеют антиокислительные свойства. Соединения X, XII проявляют значительный противолучевой эффект, связанный, вероятно, с антиокислительной активностью этих соединений.

## ЛИТЕРАТУРА


1. Н. М. Эмануэль. Фенольные соединения и их биологические функции. М., «Наука», 1968, стр. 311.
2. И. И. Сапежинский, М. С. Постникова, Н. М. Эмануэль. Докл. АН СССР, 1963, **148**. 1207.
3. Ng. Ph. Buu-Hoï. J. Org. Chem., 1953, **18**, 1723.
4. Ng. Ph. Buu-Hoï. J. Org. Chem., 1954, **19**, 1770.
5. А. П. Новикова, Г. Н. Липунова, И. Я. Постовский. Ж. орг. хим., 1973, **9**, 588.
6. Д. Г. Кнорре, З. К. Майзус, Н. М. Эмануэль. Ж. физ. хим., 1955, **39**, 710.
7. И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин, И. Я. Постовский, В. И. Филякова, Э. А. Тарахтий. Статья в наст. сб., стр. 3.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ • 1978

*Б. Н. Лапин, Л. Н. Расина, А. П. Новикова*

# СИНТЕЗ И ПРОТИВОЛУЧЕВАЯ АКТИВНОСТЬ АЗОМЕТИНОВ В РЯДУ ТРИОКСИБЕНЗАЛЬДЕГИДОВ

Многие природные соединения, содержащие полифенольные группировки (кверцетин, рутин, галловая кислота и др.), обладают радиозащитным действием [1, 2], которое связывают со способностью этих соединений ингибировать свободнорадикальные биохимические процессы, в том числе окислительные [3].

Многие азометины также проявляют выраженный ингибирующий эффект в окислительных процессах [4, 5], поэтому целесообразно исследовать серию азометиновых соединений в ряду 2,4,5-триоксибензальдегида и пирогаллового альдегида. В настоящей работе описан синтез и противолучевые свойства азометинов, полученных с антраниловой кислотой, *о*-аминофенолом, аминосахарами и аминогуанидином (табл. 1).

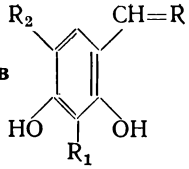
## Синтез азометинов

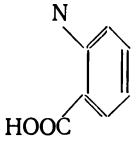
Синтез азометинов проводили при умеренном нагревании эквимолекулярных количеств пирогаллового альдегида или 2, 4, 5-триоксибензальдегида и первичного амина в водном или спиртовом растворе. Полученные соединения представляют собой окрашенные в различные тона желтого цвета кристаллические вещества, растворимые в полярных органических растворителях и воде. Строение их подтверждается ходом синтеза, данными элементного анализа, химическими свойствами, а также ИК-спектрами. В ИК-спектрах в вазелиновом масле указанные соединения имеют характерную для азометинов полосу поглощения в области 1600—1640 *см*$^{-1}$. Азометины синтезировали по следующим методикам.

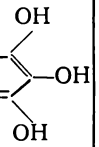
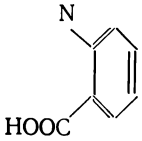
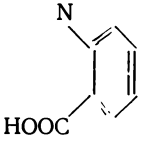
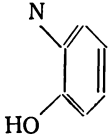
**(*о'*-Карбоксифенил)-2,3,4-триоксибензальдимин (I).** В 30 *мл* воды растворяли 0,69 *г* (0,005 М) антраниловой кислоты и добавляли горячий раствор 0,77 *г* (0,005 М) пирогаллового альдегида (т. пл. 158°; по [6], т. пл. 159°) в 10 *мл* воды. Смесь кипятили 30 *мин*, к горячему раствору добавляли активированный уголь и фильтровали.

Таблица 1

**Состав и основные свойства азометинов**




| № соединения | R | $R_1$ | $R_2$ | Т. пл., °С | Найдено, % | | | Брутто-формула | Вычислено, % | | | Выход, % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | C | H | N | | C | H | N | |
| I |  | OH | H | 253 ** | 61,0 | 4,2 | 5,34 | $C_{14}H_{11}NO_5$ | 61,5 | 4,0 | 5,1 | 80 |
| II | $N—NH—C(=NH\cdot HCl)NH_2$ | OH | H | 234 | 38,6 | 4,3 | 14,4 * | $C_8H_{11}N_4O_3Cl\cdot H_2O$ | 38,9 | 4,0 | 14,4 * | 90 |
| III | $NCH_2C_5H_{11}O_5$ | OH | H | 134—136 | 49,1 | 6,1 | 4,2 | $C_{13}H_{19}NO_8$ | 49,2 | 6,0 | 4,4 | 50 |
| IV | $NNHCOCH(NHCOCH_3)CH_2Ph$ | OH | H | 217—219 | 60,0 | 6,3 | 10,5 | $C_{18}H_{19}N_3O_5\cdot C_2H_5OH$ | 59,6 | 6,2 | 10,4 | 90 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| V | NNHCO–  | OH | H | 286 | 47,3 | 4,7 | 7,8 | $C_{14}H_{12}N_2O_7$ | 47,2 | 4,5 | 7,8 | 70 |
| VI |  | OH | $CH_2N$ O | 186—187 | 58,8 | 5,6 | 7,0 | $C_{19}H_{20}N_2O_6 \cdot H_2O$ | 58,5 | 5,6 | 7,2 | 65 |
| VII |  | H | OH | 250 ** | 61,5 | 4,3 | 4,9 | $C_{14}H_{11}NO_5$ | 61,5 | 4,0 | 5,1 | 78 |
| VIII | NNHC—$NH_2$ ‖ NH·HCl | H | OH | 248—250 | 38,6 | 4,6 | 14,3 * | $C_8H_{11}N_4O_3Cl \cdot H_2O$ | 38,9 | 4,0 | 14,4 * | 90 |
| IX | $NCH_2C_5H_{11}O_5$ | H | OH | 103—104 | 49,53 | 6,2 | 4,2 | $C_{13}H_{19}NO_8$ | 49,2 | 6,0 | 4,4 | 50 |
| X | $NCH_2C_4H_9O_4$ | H | OH | 125—127 | 50,6 | 6,3 | 5,2 | $C_{12}H_{17}NO_7$ | 50,2 | 5,9 | 4,9 | 47 |
| XI |  | H | OH | 260 | 63,9 | 4,6 | 5,4 | $C_{13}H_{11}NO_4$ | 63,7 | 4,5 | 5,7 | 65 |

* Процентное содержание хлора.
** Температура разложения.

Таблица 2

**Токсичность и противолучевая активность азомегинов**

| № соединения | Токсическая доза, *мг/кг* | Противолучевая активность | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Вводимая доза, *мг/кг* | Время введения, *мин* | Выживание, % |
| I | >273 | 240<br>273 | 15<br>40<br>перед облучением | 58<br>58<br>34 |
| II | 140 | 120<br>60 | 15<br>15 | 8<br>8 |
| III | 475 | 396<br>317 | 15<br>30<br>15<br>30 | 58<br>42<br>25<br>8 |
| IV | 604 | 403 | 15<br>30 | 16<br>25 |
| V | 160 | 140 | 15 | 0 |
| VI | 680 | 340 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| VII | 423 | 212<br>282 | 15<br>30<br>15<br>30 | 8<br>0<br>25<br>8 |
| VIII | 74 | 61,5 | 15 | 0 |
| IX | 158,5 | 127<br>95,2 | 5—8<br>15<br>15<br>30 | 0<br>25<br>16<br>0 |
| X | 244 | 215<br>143 | 5—8<br>15<br>15<br>30 | 20<br>50<br>0<br>9 |
| XI | 122 | 98 | 15<br>30 | 0<br>0 |

Выпавший в осадок при охлаждении оранжево-желтый кристаллический продукт отфильтровывали и кристаллизовали из воды, затем высушивали в вакууме при температуре 100° С в течение 6 *час*.

Аналогично получены соединения II, VI, VII, VIII, XI.

**(1′-Дезокси-1′-сорбитол)-2,3,4-триоксибензальдимин (III).** Смешивали 1,3 *г* (0,0072 М) 1-дезокси-1-аминосорбитола и 1,15 *г* (0,0072 М) альдегида с 40 *мл* этанола и растворяли при нагревании, затем добавляли каталитическое количество бикарбоната натрия и кипятили в течение двух часов. Горячий раствор фильтровали. При охлаждении получили аналитически чистый продукт. Его высушивали в вакууме при 60° С в течение 6 *час*.

Аналогично получены соединения IV, IX, X.

**1-(2′,3′,4′-триоксибензаль)-2-галоилгидразон (V).** Смешивали 1,54 *г* (0,01 М) пирогаллового альдегида и 1,82 *г* (0,01 М) гидразида галловой кислоты с 10 *мл* ДМФА, смесь кипятили 20 *мин*. Затем в вакууме отгоняли растворитель, остаток дважды кристаллизовали из 250 *мл* водного этанола (1 : 1).

## Биологические испытания

Изучение токсичности и противолучевой активности полученных азометинов проводили на мышах линии BALB и CBA по описанной ранее методике [7].

**Токсичность.** Азометины пирогаллового альдегида менее токсичны по сравнению с азометинами 2, 4, 5-триоксибензальдегида (табл. 2).

**Противолучевая активность.** Препараты вводили внутрибрюшинно в максимально переносимой дозе за 5—40 *мин* до облучения. Как видно из полученных данных (табл. 2), значительную противолучевую активность (50—58% облученных мышей выживало) проявили два соединения в ряду пирогаллового альдегида: с остатком 1-дезокси-1-аминосорбитола (III) и антраниловой кислоты (I), а в ряду 2, 4, 5-триоксибензальдегида — с остатком 1-дезокси-1-аминорибитола (X). Наибольший противолучевой эффект наблюдался при введении указанных соединений за 15 *мин* до облучения; с увеличением интервала времени между введением и облучением эффект снижался. В ряду пирогаллового альдегида соединение I, содержащее остаток антраниловой кислоты, сохраняло противолучевую активность также при введении вещества в организм за 40 *мин* до облучения.

На жировой модели (олеиновая кислота) были изучены антиокислительные свойства исследуемых соединений по известной методике [8]. Азометины проявили антиокислительную активность, на основании чего можно предположить антирадикальный механизм их противолучевого действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. А. Тиунов, Г. А. Васильев, Э. А. Вальдштейн. Противолучевые средства. М.—Л., «Наука», 1964.

2. Г. Н. Богданов, Е. Б. Бурлакова, Н. П. Коновалова, К. Е. Круглякова. Фенольные соединения и их биологические функции. М., «Наука», 1968, стр. 338.

3. Н. М. Эмануэль. Пути синтеза и изыскания противоопухолевых препаратов. М., Медгиз, 1962.

4. Е. Н. Матвеева, Ф. Ю. Рачинский, М. З. Кремень, Т. Г. Потапенко. Пластические массы, 1961, 2, 12.

5. Л. М. Постников, Н. Г. Зарубин, Е. В. Вичутинская, В. Я. Шляпинтох, Н. В. Мартынов, Я. Э. Брюске. Изв. АН СССР, сер. хим., 1968, 2, 260.

6. H. Gross, A. Rieche, G. Mattey. Chem. Ber., 1963, **96**, 308.

7. И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин, И. Я. Постовский, В. И. Филякова, Э. А. Тарахтий. Статья в наст. сб., стр. 3.

8. Д. Г. Кнорре, З. К. Майзус, Н. М. Эмануэль. Ж. физ. хим., 1955, **29**, 710.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*И. Я. Постовский, А. П. Новикова,*
*Л. П. Сидорова, Л. А. Чечулина, И. П. Трегубенко*

# 2-АМИНО- И 2-ГИДРАЗИНОТИАЗОЛЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ОСТАТКИ ПОЛИФЕНОЛОВ В ПОЛОЖЕНИИ 4, КАК ПРОТЕКТОРЫ ЛУЧЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ

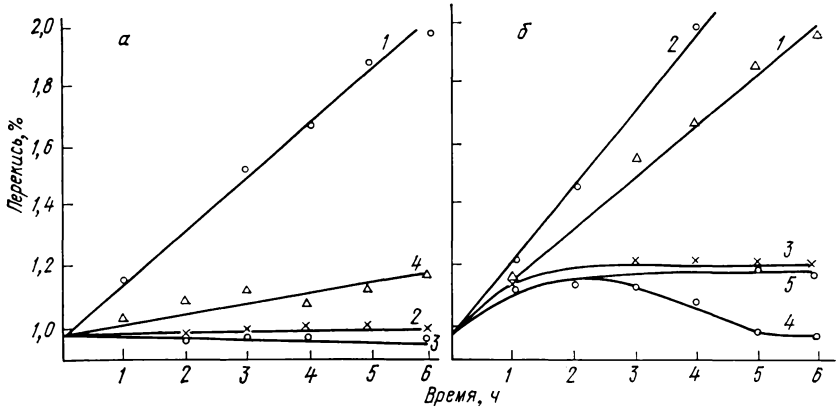
Основное направление исследований в области химической защиты организма от облучения — поиск радиопротекторов с большой терапевтической широтой [1]. Интерес представляет синтез и противолучевой эффект производных тиазола, поскольку тиазольный цикл входит в состав многих биологически активных соединений, в том числе витамина $B_1$ и препаратов с антибактериальными свойствами, например сульфатиазола [2]. Появились сведения о производных 2-аминотиазола, стимулирующих обмен в тканях, а также применяемых для защиты от облучения [3].

Нами синтезирована серия 2-амино- и 2-гидразинотиазолов, содержащих в положении 4 фенил или остатки полифенолов (пирокатехина, гидрохинона, резорцина или пирогаллола), и изучена их противолучевая активность.

## Синтез 2-амино- и 2-гидразинотиазолов с полифенольными остатками

Синтез 2-гидразинотиазолов (I—IV) проводили по методике [4, 5] при нагревании 1-ацетилтиосемикарбазида с соответствующими фенацилгалогенидами и последующем гидролизе ацетильной группы.

Производные 2-аминотиазола (V и VI), содержащие остатки пирокатехина или гидрохинона, получены конденсацией соответствующих диоксифенацилгалогенидов с тиомочевиной в этаноле. 2-Амино-4-(2,4-диоксифенил) тиазол (VII) с остатком резорцина в положении 4 получен по методике [6] при нагревании резацетофенона с двухкратным избытком тиомочевины и иода в этаноле. При этом образуется гидроиодид, из которого при обработке разбавленным раствором аммиака до pH7 выделили основание соединения (VII). Из основания добавлением соляной кислоты синтезирован гидрохлорид VIIa.




Антиокислительная активность 2-гидразино-4-оксиарилтиазолов (*а*) и 2-амино-4-оксиарилтиазолов (*б*).

*а*: *1* — олеиновая кислота, *2* — пирогаллол, *3* — 4-(2′,3′,4′-триоксифенил)-2-гидразинотиазол, *4* — (3′,4′-диоксифенил)-2-гидразинотиазол.

*б*: *1* — олеиновая кислота, *2* — 2-амино-4-фенилтиазол, *3* — 2-амино-4-(3′,4′-диоксифенил)тиазол, *4* — 2-амино-4-(2′,5′-диоксифенил)тиазол, *5* — 2-амино-4-(2′,3′,4′-триоксифенил)тиазол.

На жировой модели при окислении олеиновой кислоты была определена антиокислительная активность изучаемых соединений по методике [7].

Значительной антиокислительной активностью обладают 2-амино- и 2-гидразинотиазолы, содержащие остатки полифенолов в положении 4. Тиазолы IV и VIII, содержащие в этом положении фенил, не проявляют ее (см. рисунок).

Производные 2-гидразинотиазола и 2-аминотиазола синтезировали следующим образом.

**4-(3′,4-диоксифенил)-2-гидразинотиазол, гидрохлорид (I).** В 25 *мл* абсолютного этанола в течение 1 *ч* нагревали 1,89 *г* (0,01 М) хлорацетилпирокатехина и 1,33 *г* (0,01 М) ацетилтиосемикарбазида. Добавляли 1 *мл* концентрированной соляной кислоты и нагревали еще 1 *ч*. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали этанолом, затем кристаллизовали из 2 н. соляной кислоты. Выход 1,9 *г* (80%); т. пл. 213—214°.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 41,92; | H 4,10; | N 16,82; | S 12,21; | Cl 13,96. |
| $C_9H_{10}N_3O_2SCl$. | Вычислено, %: | C 41,61; | H 3,85; | N 16,14; | S 12,33; | Cl 14,5. |

**4-(3′, 4′-диоксифенил)-2-ацетилгидразинотиазол (II).** В абсолютном этаноле (25 *мл*) в течение 1 *ч* кипятили 1,89 *г* (0,01 М) хлорацетилпирокатехина и 1,33 *г* (0,01 М) ацетилтиосемикарбазида. Из фильтрата после удаления растворителя выделили желтый осадок, его растворяли в 20 *мл* воды и добавляли насыщенный раствор ацетата натрия до полноты осаждения. Выпавший осадок кристаллизовали из воды. Выход 0,65 *г* (40%); т. пл. 223—224°.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 50,01; | H 4,14; | N 15,82; | S 12,36. |
| $C_{11}H_{11}N_3SO_3$. | Вычислено, %: | C 49,80; | H 4,17; | N 15,85; | S 12,07. |

**4-(2′, 3′, 4′-триоксифенил)-2-гидразинотиазол, гидрохлорид (III).** В 25 *мл* бутанола растворяли 3,0 *г* (0,015 М) ω-хлоргаллацетофенона, добавляли 1,5 *г* (0,016 М) тиосемикарбазида и нагревали до кипения. Нагревание продолжали на кипящей водяной бане в течение 10 *мин.* Выпавший осадок отфильтровывали, промывали бутанолом и эфиром. Кристаллизовали из 2н. соляной кислоты. Выход 3,7 *г* (90%); т. пл. 217—219°.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 39,62; | H 3,73; | N 15,39; | S 11,58; | Cl 13,09. |
| $C_9H_{10}N_3SO_3Cl$. | Вычислено, %: | C 39,20; | H 3,65; | N 15,24; | S 11,53; | Cl 12,86. |

**4-(2′, 5′-диоксифенил)-2-аминотиазол, гидробромид (VI).** К горячему раствору 4,2 *г* (0,055 М) тиомочевины в 40 *мл* этанола добавляли 11,5 *г* (0,05 М) ω-бромацетофенона и нагревали на водяной бане 7 *ч.* После охлаждения выпавший продукт отфильтровывали. Фильтрат упаривали досуха, остаток обрабатывали уксусной кислотой и выделяли еще 5,5 *г* продукта, кристаллизовали из смеси этанол: хлороформ в соотношении 1 : 1. Выход 12,5 *г* (87%); т. пл. 216—218°; $R_f$=0,66. Хроматографический анализ проведен на силуфоле в системе бутанол — этилацетат (7 : 3).

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 37,83; | H 3,13; | S 10,66; | N 9,32; | Br 27,78. |
| $C_9H_9N_2O_2SBr$. | Вычислено, %: | C 37,37; | H 3,11; | S 11,07; | N 9,69; | Br 27,67. |

**4-(2′, 4′-диоксифенил)-2-аминотиазол, гидроиодид (VII).** На водяной бане в течение 12 *ч* нагревали 2,72 *г* (0,018 М) резацетофенона, 3,04 *г* (0,040 М) тиомочевины и 5 *г* (0,020 М) иода в 54 *мл* этанола. Затем отфильтровывали выпавшую серу, фильтрат упаривали. Остаток кристаллизовали из воды. Выход 1,8 *г* (25%); т. пл. 254—255°.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Найдено, %: | C 32,30; | H 2,95; | S 9,31; | N 8,70. |
| $C_9H_9N_2O_2SJ$. | Вычислено, %: | C 32,14; | H 2,67; | S 9,52; | N 8,33. |

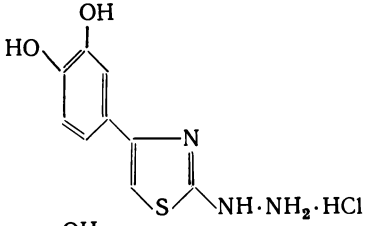
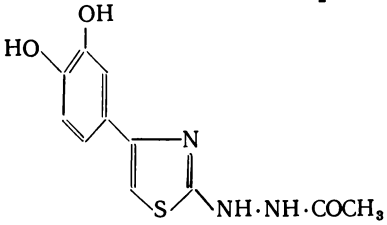
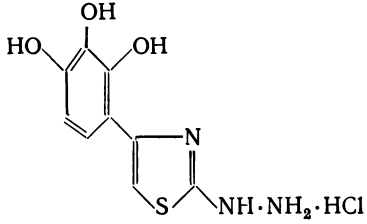
**4-(2′, 4′-диоксифенил)-2-аминотиазол, гидрохлорид (VIIa).** В 20 *мл* горячей воды растворяли 0,9 *г* (0,0026 М) гидроиодида и добавляли по каплям разбавленный раствор аммиака до pH7. Выпавший в виде бесцветных пластинок осадок отфильтровывали и растворяли в 2 н. соляной кислоте, затем дважды кристаллизовали из нее; $R_f$=0,74. Хроматографический анализ проведен на силуфоле в системе хлороформ — спирт (5 : 1).

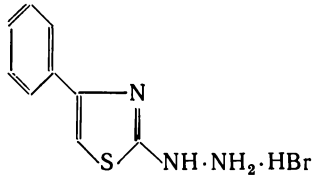
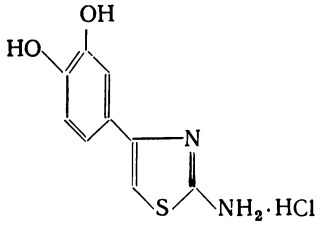
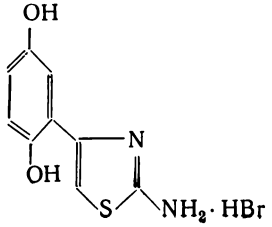
### Биологические испытания

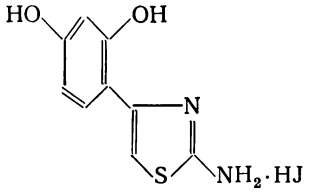
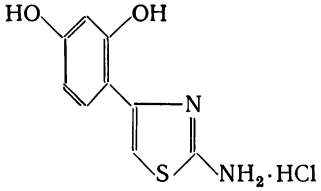
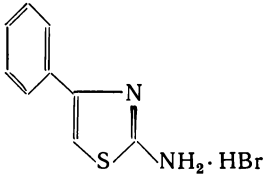
Производные 2-аминотиазола и 2-гидразинотиазола испытывали на токсичность и противолучевую активность по принятой в лаборатории схеме [8] на мышах линии BALB и CBA (см. таблицу).

**Токсичность.** Водные растворы препаратов (pH5) вводили внутрибрюшинно. В ряду производных 2-гидразинотиазола (см. таблицу, I—IV) полученные соединения относительно мало растворимы, в связи с чем токсические дозы не могли быть достиг-

**Токсичность и противолучевая активность 2-амино- и 2-гидразинотиазолов, содержащих остатки полифенолов в положении 4**

| № соединения | Структурная формула | Т. пл., °С | Мол. вес | Токсическая доза, *Мм/кг* | Противолучевая активность | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Вводимая доза, *мМ/кг* | Время введения, *мин* | Выживание, % |
| I |  | 213—214 | 259,71 | >0,75 | 0,75 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| II |  | 223—224 | 265,29 | >0,5 | 0,5 | 15<br>30 | 33<br>25 |
| III |  | 213—214 | 275,71 | >0,3 | 0,3 | 15<br>30 | 17<br>0 |

| № соединения | Структурная формула | Т. пл., °С | Мол. вес | Токсическая доза, *Мм/кг* | Противолучевая активность | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | вводимая доза, *мМ/кг* | время введения, *мин* | выживание, % |
| IV |  | 169—170 | 272,16 | Не растворимо | | — | — |
| V |  | 233—235 | 244,69 | 1,5 | 0,75 | 15<br>30 | 8<br>0 |
| VI |  | 216—217 | 289,11 | 1,75 | 1,0 | 15<br>30 | 0<br>0 |

| № соединения | Структурная формула | Т. пл., °С | Мол. вес | Токсическая доза, *Мм/кг* | Противолучевая активность | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | вводимая доза, *мМ/кг* | время введения, *мин* | выживание, % |
| VII |  | 254—255 | 336,14 | 1,0 | 0,75 | 15<br>30 | 58<br>50 |
| VIIa |  | 235—236 | 244,70 | 1,3 | 0,75 | 15<br>30 | 0<br>25 |
| VIII |  | 175—177 | 257,14 | $СД_{50}=0,48$<br>$СД_{16}=0,47$ | 0,20 | 5<br>15<br>30<br>45<br>60 | 25<br>58; 42<br>83; 42<br>58<br>30 |
| | | | | | 0,23 | 15<br>30<br>45<br>60 | 16; 25<br>8; 25<br>16<br>25 |

нуты. Поэтому при определении протекторной активности вещества его вводили животным в максимально возможном количестве.

Растворимость соединений в ряду 2-аминотиазола была большей. Определена их минимальная смертельная доза (см. таблицу). Ввиду ограниченного количества препаратов, мы были лишены возможности получить кривую смертности (исключение составляет препарат VIII).

**Противолучевая активность.** Все исследуемые соединения вводили за 5—60 *мин* до облучения в дозах, составляющих 1/2 $СД_{16}$ или 1/2 от минимальной токсической.

Фенилпроизводные 2-гидразинотиазола не проявили в биологических экспериментах выраженной противолучевой активности. Лишь 2-ацетилгидразино-4-(3′, 4′-диоксифенил)тиазол при введении за 15 *мин* до облучения защитил 33% животных. Маловыраженная протекторная активность или ее полное отсутствие, вероятно, объясняются недостаточным количеством поступившего в организм вещества ввиду ограниченной его растворимости.

В ряду испытанных аминотиазолов гидробромид 2-амино-4-фенилтиазола (VIII) и гидроиодид 2-амино-4-(2′, 4′-диоксифенил)тиазола (VII) оказали высокий защитный эффект: выживаемость при их введении достигала 83—85%. Интересно, что гидрохлорид 2-амино-4(2′, 4′-диоксифенил)тиазола значительно менее эффективен. Протекторные свойства испытанных веществ практически не коррелируют с антиокислительной активностью, полученной на жировой модели in vitro.

## ЛИТЕРАТУРА


1. В. Г. Яшунский. Усп. хим., 1975, **46**(3), 531.
2. Гетероциклические соединения. ч. V. Под ред. Эльдерфильда. М., ИЛ, 1961, стр. 397.
3. H. Laborit. Способ получения производных 2-аминотиазола. Франц. пат. 1.567.911 (1967). Р. ж., Хим., 1960, 9Н 342П.
4. H. Beyer, H. Höhn, W. Lässig. Chem. Ber., 1952, **85**, 1122.
5. И. Я. Постовский, А. П. Новикова, Л. А. Чечулина, Л. П. Сидорова. Хим. гет. соед., 1976, 8, 1051.
6. R. M. Dodson, L. C. King. J. Amer. Chem. Soc., 1945, **67**, 2242.
7. Д. Г. Кнорре, З. К. Майзус, Н. М. Эмануэль. Ж. физ. хим., 1955, **39**, 710.
8. И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин, И. Я. Постовский, В. И. Филякова, Э. А. Тарахтий. Статья в наст. сб., стр. 3.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

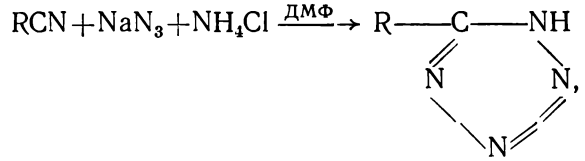
*В. Г. Китаева, Н. М. Воронина,*
*Н. И. Латош, Б. Н. Лапин, В. П. Мамина*

# СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТЕТРАЗОЛА

Производные тетразола обладают широким спектром биологического действия [1, 2, 3, 4]. С целью исследования противолучевой активности нами синтезированы 5-алкил (арил) замещенные тетразолы.

## Синтез веществ

Почти все 5-замещенные тетразолы получены при взаимодействии соответствующих нитрилпроизводных с азидом натрия в присутствии катализатора в растворе диметилформамида [5, 6, 7]. Схема реакции:



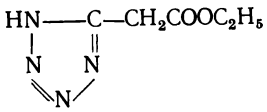
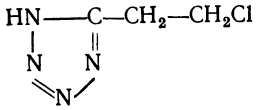
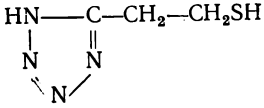
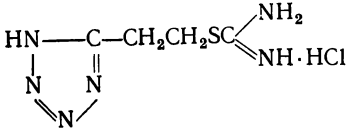
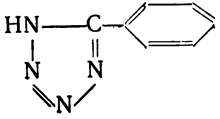

где R — алкил- и арилзаместители. Производные тетразола (табл. 1) синтезированы по следующей методике.

**5β-Хлорэтилтетразол** [7]. К 13,3 *г* безводного хлористого алюминия добавляли 8,95 *г* хлорпропионитрила, 29 *г* азида натрия и 200 *мл* сухого тетрагидрофурана. Реакционную массу нагревали 24 *ч* при 60 — 65°, затем охлаждали до комнатной температуры и подкисляли 150 *мл* 15%-ной соляной кислоты. Отделяли тетрагидрофурановый слой, а из солянокислого слоя экстрагировали несколько раз этилацетатом. Затем объединяли тетрагидрофурановый и этилацетатный растворы и отгоняли растворители. Оставшийся продукт перекристаллизовывали из дихлорэтана.

**5β-Меркаптоэтилтетразол**. Смесь из 0,76 *г* 5β-хлорэтилтетразола, 0,28 *г* гидросульфида натрия, 30 *мл* абсолютного спирта кипятили 1,5 — 2 *ч*. Растворитель отгоняли, остаток растворяли в абсолютном ацетоне и пропускали через колонку с $Al_2O_3$. Ацетон отго-

Таблица 1

**Состав и основные свойства синтезированных 5-замещенных тетразолов**

| № п. п. | Структурная формула | Брутто-формула | Мол. вес | Выход, % | Т. пл., °С | Вычислено, % | | | Найдено, % | | | Данные |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | C | H | N | C | H | N | |
| 1 |  | $C_5H_8N_4O_2$ | 156,0 | 46,5 | 128 | 38,40 | 5,13 | 36,0 | 38,66 | 5,43 | — | [6] |
| 2 |  | $C_3H_5N_4Cl$ | 132,5 | 79,0 | 104,5 | 27,16 | 3,78 | 42,26 | 27,14 | 3,89 | 42,50 | [7] |
| 3 |  | $C_3H_6N_4S$ | 130,1 | 53,5 | 85—86 | 27,69 | 4,62 | 43,07 | 27,46 | 4,02 | 43,30 | Наши |
| 4 |  | $C_4H_9N_6SCl$ | 208,5 | 60,0 | 165 | 23,00 | 4,31 | 40,20 | 23,29 | 4,08 | 40,17 | Наши |
| 5 |  | $C_7H_6N_4$ | 146,0 | 48,5 | 212 | 57,53 | 4,11 | 38,35 | 57,92 | 4,16 | 38,5 | [6] |

Окончание табл. 1

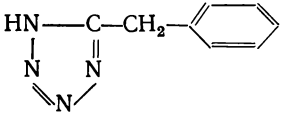
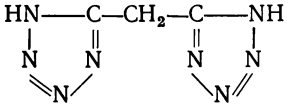
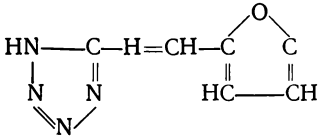
| № п. п. | Структурная формула | Брутто-формула | Мол. вес | Выход, % | Т. пл., °C | Вычислено, % | | | Найдено, % | | | Данные |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | C | H | N | C | H | N | |
| 6 |  | $C_8H_8N_4$ | 160 | 50 | 122,3 | 60,00 | 5,00 | 35,00 | 60,44 | 5,04 | 35,6 | [6] |
| 7 |  | $C_3H_4N_8$ | 152 | 28,2 | 218 | 23,67 | 2,63 | 73,67 | 23,76 | 3,08 | 73,90 | [6] |
| 8 |  | $C_6H_5N_5O$ | 163 | 33,3 | 190 | 44,02 | 3,08 | 42,80 | 43,99 | 3,40 | 42,66 | Наши |

Таблица 2

**Токсичность и противолучевая активность 5-замещенных тетразолов**

| № п. п. | Соединение | Токсическая доза, *мм/кг* | Противолучевая активность | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Вводимая доза, *мМ/кг* | Время до облучения, *мин* | Выживаемость, % |
| 1 | Этиловый эфир тетразолилуксусной кислоты* | >30 | 5,0 | 5 | 0 |
| 2 | 5β-хлорэтилтетразол | >1,0 | 1,0 | 15—20 | 42 |
| | | | | 30 | 0 |
| | | | 0,5 | 15 | 0 |
| 3 | 5β-меркаптоэтилтетразол | >1,5 | 1,5 | 15 | 0 |
| | | | 0,75 | 15 | 0 |
| 4 | 5S-β-тетразолилэтилизотиуроний хлорид | >2,0 | 1,0 | 15 | 25 |
| | | | | 30 | 0 |
| | | | 1,5 | 15 | 20 |
| | | | | 30 | 0 |
| | | | | 45 | 0 |
| 5 | 5-бензилтетразол | >2,0 | 1,0 | 15 | 8 |
| | | | | 30 | 25 |
| | | | 1,5 | 30 | 0 |
| | | | | 45 | 0 |
| 6 | 5-фенилтетразол | — | Растворяется при добавлении NaOH, PH=10; не испытан | | |
| 7 | Дитетразолилметан | | Не испытан | | |
| 8 | 5-фурфурилиденаминотетразол | >2,0 | 1,0 | 15 | 0 |
| | | | | 30 | 0 |
| | | | 2,0 | 15 | 0 |
| | | | | 30 | 0 |

* Препарат вводили подкожно, другие — внутрибрюшинно.

няли. Вещество промывали абсолютным эфиром, сушили в вакуум-эксикаторе.

### Биологические испытания

Токсичность и противолучевую активность препаратов (табл. 2) испытывали на мышах линии BALB и CBA по ранее описанной методике [8].

**Токсичность** производных тетразола очень низка. Все соединения в виде водных растворов, введенные внутрибрюшинно, не вызывали гибели мышей при испытанных дозах в пределах 2 *мМ/кг*.

**Противолучевая активность.** Водные растворы 5-замещенных тетразолов в дозах 0,5 — 2 *мМ/кг* вводили мышам внутрибрюшинно за 15 — 45 *мин* до облучения. Три соединения: 5β-хлорэтилтетразол (№ 2) ,5S-β-тетразолилэтилизотиуроний хлорид (№ 4) и 5-бензилтетразол (№ 5) — проявили слабый защитный эффект. Наиболее высокий процент выживших мышей (42%) получен с

веществом № 2, введенным за 15 — 20 *мин* до облучения. Однако этот эффект кратковременен: с увеличением срока между введением вещества и облучением протекторные свойства его исчезают. 5S-β-тетразолилизотиуроний хлорид (№ 4), введенный за 15 *мин* до облучения, защитил 25% мышей; 5-бензилтетразол (№ 5) также оказал слабый эффект, остальные препараты противолучевой активности не проявили.

## Выводы

1. Синтезированные алкил- (арил) -5-производные тетразола малотоксичны.
2. Из шести испытанных 5-алкил (арил) замещенных тетразола три обладали слабой противолучевой активностью, длящейся короткое время, остальные ее не проявляли.

ЛИТЕРАТУРА

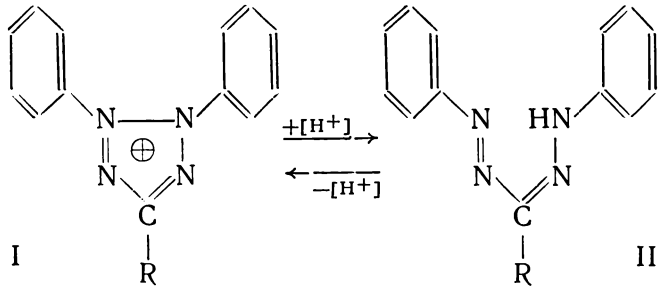
1. Gerhard Satzinger. Just. Lieb. Ann. Chem., 1960, 638, 159.
2. Leonard E. Brady, Robert M. Herbst, J. Org. Chem, 1959, **24**, 7, 922.
3. П. Н. Кулябко, Р. Г. Дубенко, П. С. Пелькис. Радиобиология, 1969, **11**, 4, 633.
4. Б. П. Белоусов, В. И. Ерашко, А. Л. Сафронов, М. Н. Грушина. Сб. рефератов по радиационной медицине. М., Медгиз, 1961, 4, 177.
5. Гетероциклические соединения, т. 8. М., «Мир», 1969, стр. 13.
6. W. g. Finnegan, R. A. Henry, R. Lofguist. J. Amer. Chem. Soc., 1958, **80**, 3908.
7. C. Arnold, D. N. Fhatcher. J. Org. Chem., 1969, **34**, 4, 1141.
8. И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин, И. Я. Постовский, В И. Филякова, Э. А. Тарахтий. Статья в наст. сб., стр. 3.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*М. И. Ермакова, Л. Н. Воронцова,*
*Э. А. Тарахтий, Б. Н. Лапин*

# СОЛИ ТЕТРАЗОЛИЯ И ИХ ПРОТИВОЛУЧЕВЫЕ СВОЙСТВА

Тетразолиевые соли общей формулы (I) представляют собой соединения, сравнительно легко восстанавливающиеся в окрашенные формазаны (II):




I II

Благодаря этому свойству соли тетразолия нашли широкое применение в гисто- и цитохимии в качестве электроноакцепторов в биологических окислительно-восстановительных системах. Способность указанных солей перехватывать электроны используется также и в микробиологии [1]. Мы исследовали тетразолиевые соли в качестве радиопротекторов, предположив возможное действие их как энергетических ловушек.

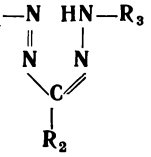
Основной метод синтеза солей тетразолия (ТС) — окисление соответствующих формазанов различными веществами: желтой окисью ртути, амилнитритом, бромсукцинимидом, тетраацетатом свинца и др. В настоящей работе для синтеза ТС использованы формазаны (табл. 1), как описанные в литературе (1, 3, 6—9), так и вновь синтезированные (2, 4, 5, 10—13).

Синтез формазанов осуществляли обычным методом сочетания арилдиазониевых солей с арилгидразонами или соединениями, содержащими активную метиленовую группу (этиловым эфиром циануксусной кислоты, ацетоуксусным эфиром).

Окисление формазанов в ТС проводили с помощью изоамилнитрита, бромсукцинимида и тетраацетата свинца. Формазаны, содержащие сульфогруппы и благодаря этому хорошо раствори-

Таблица 1

**Состав и температура плавления формазанов**



| № соединения | Заместители | | | Т. пл., °С | Брутто-формула | Содержание N, % | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | | | Найдено | Вычислено |
| 1 | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ | 170—171 | — | — | — |
| 2 | 2-OH—$C_6H_5$ | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ | 164—165 | $C_{19}H_{17}N_4O$ | 17,44 | 17,72 |
| 3 | 2-OOH—$C_6H_5$ | $CH_3CO$ | 2-OH—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | >250 | $C_{16}H_{13}N_4NaO_7S$ | 13,44 | 13,79 |
| 4 | 2-OH—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | $CH_3CO$ | 2-OH—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | >250 | $C_{15}H_{12}N_4Na_2O_9S_2$ | 10,30 | 10,41 |
| 5 | 2-$OCH_3$—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | $CH_3CO$ | 2-OH—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | >250 | $C_{16}H_{14}N_4Na_2O_9S_2$ | 10,50 | 10,65 |
| 6 | 4-COOH—$C_6H_4$ | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ | 210—211 | — | — | — |
| 7 | $C_6H_5$ | $CH_2$-морфолинил | $C_6H_5$ | 170—172 | — | — | — |
| 8 | $C_6H_5$ | $CH_2$-пиперидил | $C_6H_5$ | 182—183 | — | — | — |
| 9 | $C_6H_5$ | H | $C_6H_5$ | 115—117 | — | — | — |
| 10 | 4-COOH—$C_6H_5$ | $CH_3CO$ | 2-OH—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | >250 | $C_{16}H_{13}N_4NaO_7S$ | 13,44 | 13,08 |
| 11 | 3-COOH—4-OH—$C_6H_3$ | $CH_3CO$ | 2-OH—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | >250 | $C_{16}H_{13}N_4NaO_8S$ | 11,58 | 11,74 |
| 12 | 2-COOH—$C_6H_4$ | CN | 2-OH—5-$SO_3Na$—$C_6H_3$ | >250 | $C_{15}H_{10}N_5NaO_6S$ | 16,86 | 17,03 |
| 13 | 2-COOH—$C_6H_4$ | $CH_3CO$ | 3-COONa—4-OH—$C_6H_3$ | >250 | $C_{17}H_{13}N_4NaO_6S$ | 14,10 | 14,29 |

мые в воде, окисляются труднее: лучший окислитель в этом случае — тетраацетат свинца. Реакция окисления с помощью $Pb(CH_3COO)_4$ сопровождается некоторыми побочными реакциями. Так, при окислении формазанов 3 и 13 наблюдалось хлорирование ТС в фенильное ядро. При окислении формазана 12 нитрильная группа в мезоположении формазана подверглась омылению до амидной группы, что подтверждено ИК-спектрами. В спектре ТС-12 отсутствует полоса поглощения 2240 $см^{-1}$, характерная для нитрильной группы, и наблюдается полоса 1640 $см^{-1}$, которая может быть отнесена к амидной группе (рис. 1).

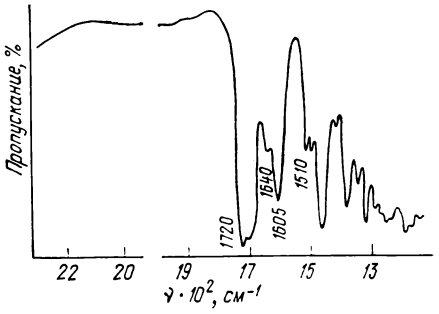



Рис. 1. ИК-спектр тетразолиевой соли 1.2

Если формазан, содержащий сульфогруппы, окисляли в виде его натриевой соли, то получали ТС в форме ацетата. Для получения ТС в виде внутренней соли брали исходный формазан в кислой форме.

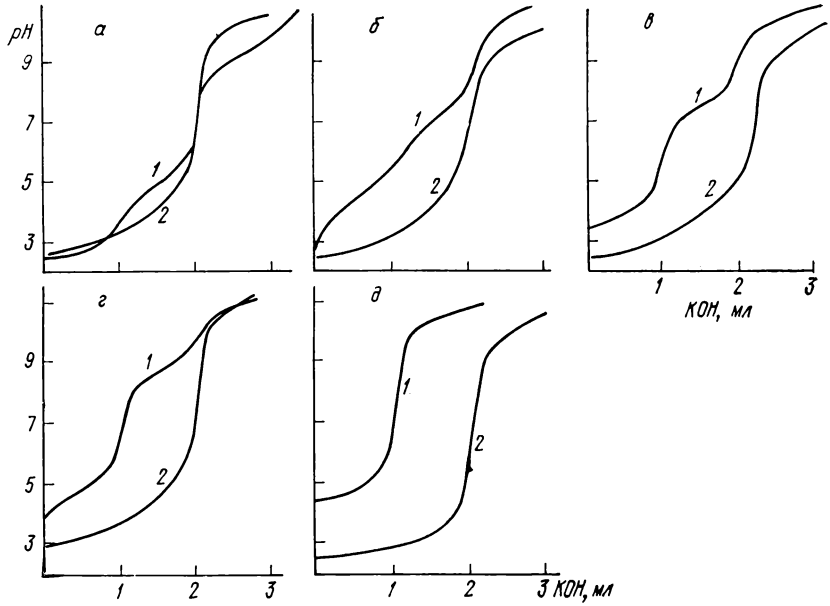



Рис. 2. Кривые титрования формазанов (1) и тетразолиевых солей (2); $c = 2 \cdot 10^{-3}$ *моль/л*.

Формазан: *а* — 3а, ТС-3а; *б* — 10, ТС-10; *в* — 11, ТС-11; *г* — 12, ТС-12; *д* — 13, ТС-13.

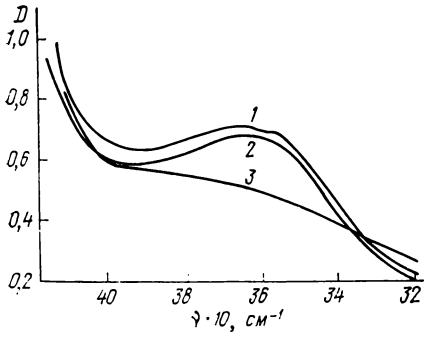



Рис. 3. Электронный спектр тетразолиевой соли 3 и ее комплекса со спиртом; $c=5\cdot10^{-5}$ *моль/л*, $l=1$ *см*.

Раствор ТС-3: *1* — в спирте, *2* — то же, при добавлении равного объема эфира, *3* — в воде.

Для идентификации как формазанов, так и ТС, кроме элементного анализа, применяли потенциометрическое титрование (рис. 2). Методом электронной спектроскопии установлено, что ТС, содержащие сульфогруппы, образуют комплексы со спиртом, которые могут быть разрушены длительной вакуумной сушкой (рис. 3).

Одной из важных характеристик ТС, применяемых в биологических исследованиях, является потенциал восстановления, определяемый полярографическим методом. Восстановление ТС протекает в несколько стадий: тетразолиевая соль → формазан → бензгидразидин → амидразон [2]. Восстановлению тетразолия в формазан соответствуют первые две волны на полярографических кривых восстановления. Сравнение активности ТС производится по потенциалу полуволны второй из этих волн. Значения потенциала несколько снижаются по сравнению с трафенилтетразолий хлоридом, если имеются заместители в фенильных радикалах (табл. 2). Таким образом, возможно восстановление ТС в окислительно-восстановительных системах живого организма.

## Методика синтеза формазанов

Потенциометрическое титрование проводили 0,1 н. раствором КОН, не содержащим $CO_2$, на титраторе ТТТ-2 (Дания) с помощью стеклянного и хлорсеребряного электродов при ионной силе 0,1 ($NaNO_3$). Инфракрасные и электронные спектры снимали на спектрофотометрах UR-20 и «Specord» соответственно. Полярографические измерения проводили при pH 7,2 в цитратно-фосфатном буферном растворе. Потенциал восстановления замеряли по отношению к насыщенному каломельному электроду на полярографе LP-60a при концентрации тетразолиевых солей $10^{-4}$*моль/л*.

**1,3,5-Трифенилформазан** (1). Получен по известной методике [4] из фенилгидразона бензальдегида и фенилдизоний хлорида.

**1-(2-Оксифенил)-3,5-дифенилформазан (2).** В 100 *мл* метанола растворяли 5,0 *г* (0,046 М) ортоаминофенола и добавляли 10 *мл* концентрированной соляной кислоты. Смесь охлаждали до 0° С и диазотировали раствором 3,5 *г* нитрита натрия в 20 *мл* воды. Затем 9,0 *г* (0,046 М) фенилгидразона бензальдегида и 10 *г* NaOH

растворяли в 350 *мл* метанола, охлаждали до 0° С и добавляли постепенно диазораствор. Перемешивали 4 *ч*, подкисляли уксусной кислотой и, добавляя воды, выделяли формазан. Вещество очищали кристаллизацией из спирта. Выход 10,6 *г* (80%). Получили темно-фиолетовые с бронзовым блеском кристаллы; т. пл. 164—165° С.

**1-(2-Карбоксифенил)-5-(2′-окси-5′-сульфофенил)-3-ацетилформазан, натриевая соль (3).** Синтезирован из 2-окси-5-сульфофенилгидразона ацетилглиоксиловой кислоты и диазотированной антраниловой кислоты.

Получение 2-окси-5-сульфофенилгидразона ацетилглиоксиловой кислоты. При 25—30° С диазотировали 19,8 *г* 2-аминофенол-4-сульфокислоты в 50 *мл* 20%-ной соляной кислоты раствором 7,0 *г* нитрита натрия в 50 *мл* воды. Суспензию диазотированного амина медленно прибавляли к раствору 15,6 *г* (0,12 М) ацетоуксусного эфира в 100 *мл* 2 н. раствора $Na_2CO_3$. Выделившийся ярко-желтый осадок отфильтровывали и кристаллизовали из разбавленного 1:1 эталова. Выход составлял 32 *г* (48,6%) натриевой соли этилового эфира 2-окси-5-сульфофенил ацетилглиоксиловой кислоты.

Омыление эфира. В 50 *мл* 2 н. раствора $Na_2CO_3$ в течение 20 *мин* кипятили 7,04 *г* (0,02 М) натриевой соли этилового эфира полученного гидразона. Раствор подкисляли разбавленной соляной кислотой и выделяли гидразон. Его очищали кристаллизацией из разбавленного 1:1 спирта. Выход составлял 4,5 *г* (70%).

Получение формазана. При 0° С диазотировали 5,44 *г* (0,04 М) антраниловой кислоты в 20 *мл* 20%-ной соляной кислоты раствором 2,8 *г* нитрита натрия в 20 *мл* воды. Диазораствор медленно прибавляли к раствору 12,08 *г* полученного выше гидразона в 100 *мл* 5%-ного раствора NaOH при 0° С. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 *ч* и оставляли в холодильнике на ночь. Затем, подкислив разбавленной уксусной кислотой, формазан отфильтровывали и кристаллизовали из разбавленного 1:1 спирта и 20%-ной уксусной кислоты. Выход составлял 9,7 *г* (60%). Получили коричнево-красные кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

**1,5-Ди-(2-окси-5-сульфофенил)-3-ацетилформазан, динатриевая соль (4).** Диазотировали 3,8 *г* (0,02 М) 2-аминофенол-4-сульфокислоты и полученную суспензию постепенно прибавляли к раствору 6,0 *г* (0,02 М) 2-окси-5-сульфофенилгидразона ацетилглиоксиловой кислоты (см. синтез формазана 3) в 50 *мл* 20%-ного $Na_2CO_3$. Раствор перемешивали в течение 2 *ч* и оставляли в холодильнике на ночь. Затем подкисляли уксусной кислотой, осадок отфильтровывали и кристиллизовали из разбавленного 1:1 спирта. Выход 7,4 *г* (74%). Получили коричневые кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

**1-(2-Метокси-5-сульфофенил)-5′-(2′-окси-5′-сульфофенил-3-ацетилформазан, динатриевая соль (5).** Синтезировали из 2-амино-4-сульфоанизола и 2-окси-5-сульфофенилгидразона ацетилглиоксиловой

Таблица 2

**Состав тетразолиевых солей**

| № соединения | Заместители | | |
|---|---|---|---|
| | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ |
| 1 | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ |
| 2 | 2-OH—$C_6H_4$ | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ |
| 3 | 2-COOH—$C_6H_4$ | $COCH_3$ | 2-OH—5-$SO_3NaC_6H_3$ |
| 3а | 2-COOH—$C_6H_4$ | $COCH_3$ | 2-OH—5-$SO_3^-$—$C_6H_3$ |
| 4 | 2-OH—5-$SO_3H$—$C_6H_3$ | $COCH_3$ | 2-OH—5-$O_3S^-$—$C_6H_3$ |
| 5 | 2-$OCH_3$—5-$SO_3H$—$C_6H_3$ | $COCH_3$ | 2-OH—5-$SO_3^-$—$C_6H_3$ |
| 6 | 4-COOH—$C_6H_5$ | $C_6H_5$ | $C_6H_5$ |
| 7 | $C_6H_5$ | $CH_2$-морфолинил | $C_6H_5$ |
| 8 | $C_6H_5$ | $CH_2$-пиперидил | $C_6H_5$ |
| 9 | $C_6H_5$ | H | $C_6H_5$ |
| 10 | 4-COOH—$C_6H_4$ | $COCH_3$ | 2-OH—5-$SO_3^-C_6H_3$ |
| 11 | 3-COOH—4-OH—$C_6H_3$ | $COCH_3$ | 2-OH—5-$SO_3NaC_6H_3$ |
| 12 | 2-COOH—$C_6H_4$ | $CONH_2$ | 2-OH—5-$SO_3NaC_6H_3$ |
| 13 | 2-COOH—$C_6H_4$ | $COCH_3$ | 3-COOH—4-OH—5Cl—$C_6H_2$ |

* Содержание хлора.

кислоты аналогично формазану 3. Выход 82%. Получили коричневые кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

**1-(4-Карбоксифенил)-3,5-диферилформазан (6).** Получен по известной методике [5] из фенилгидразона бензальдегида и *п*-аминобензойной кислоты.

**1,5-Дифенил-3-морфолинилметилен-формазан (7) и 3-пиперидинилметилен-формазан (8)** получены по методике [6].

**1,5-Дифенилформазан (9)** синтезирован по методике [7].

**1-(4-Карбоксифенил)-5-(2′-окси-5′-сульфофенил)-3-ацетилформазан, динатриевая соль (10).** Получен из 2-окси-5-сульфофенилгидразона ацетилглиоксиловой кислоты и *п*-аминобензойной кислоты. В 25 *мл* 10%-ного раствора NaOH растворяли 3,24 *г* (0,01 М) гидразона (получение последнего — см. синтез формазана 3). Смесь охлаждали до 0° С и сочетали с диазониевой солью, полученной из 1,37 *г* *п*-аминобензойной кислоты, 12 *мл* 20%-ной соляной кислоты и 0,7 *г* нитрата натрия. При сочетании необходимо соблюдать pH реакции 7—7,5. Затем реакционную массу выдерживали при 0° С в течение 3—4 *ч*, после чего подкисляли разбавленной соляной кислотой. Осадок отфильтровывали и кристаллизовали из разбавленного 1:1 спирта; выход 3,4 *г* (80%). Получили коричнево-красные кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

**1-(3-Карбокси-4-оксифенил)-5-(2′-окси-5′-сульфофенил)-3-ацетилформазан, натриевая соль (11).** Получен из 3-карбокси-4-оксифе-

| Анион X— | Брутто-формула | Найдено, % | | | Вычислено, % | | | $-E_{1/2}$ при pH 7,2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | C | H | N | C | H | N | |
| Cl | | — | — | — | — | — | — | 0,490 |
| Cl | $C_{19}H_{15}N_4OCl$ | — | — | 16,10 | — | — | 15,92 | 0,394 |
| $CH_3COO$ | $C_{17}H_{15}N_4NaO_9S$ | 44,16 | 3,16 | 11,75 | 44,44 | 3,10 | 11,52 | — |
| Внутренняя соль | $C_{15}H_{12}N_4O_7S \cdot H_2O$ | 45,49 | 4,08 | 7,63 | 45,50 | 3,34 | 7,59 | 0,425 |
| То же | $C_{15}H_{12}N_4O_9S_2$ | — | — | 12,30 | — | — | 12,30 | 0,420 |
| » | $C_{16}H_{14}N_4O_9 \cdot S \cdot H_2O$ | — | — | 11,40 | — | — | 11,47 | 0,485 |
| Cl | $C_{20}H_{15}N_4O_2Cl$ | 63,42 | 4,18 | 15,30 | 63,49 | 3,96 | 14,82 | 0,338 |
| 2Cl | $C_{18}H_{20}ClN_5O \cdot HCl$ | — | — | 17,60 | — | — | 18,05 | — |
| 2Cl | $C_{19}H_{22}ClN_5 \cdot HCl$ | — | — | 18,00 | — | — | 17,90 | — |
| Cl | $C_{13}H_{11}N_4Cl$ | 60,48 | 5,68 | 22,20 | 60,35 | 4,25 | 21,66 | — |
| Внутренняя соль | $C_{16}H_{12}N_4O_7S \cdot H_2O$ | 45,43 | 3,60 | 14,10 | 45,50 | 3,34 | 13,26 | — |
| $CH_3COO$ | $C_{18}H_{15}N_4NaO_{10}S$ | 42,89 | 3,11 | 11,58 | 43,03 | 3,01 | 11,15 | — |
| $CH_3COO$ | $C_{17}H_{14}N_5NaO_9S \times 1/2H_2O$ | 40,94 | 2,98 | 14,00 | 41,13 | 3,04 | 14,11 | — |
| Cl | $C_{17}H_{14}Cl_2N_4O_7 \cdot H_2O$ | 15,36 * | — | 12,96 | 16,14 * | — | 12,98 | — |

нилгидразона ацетилглиоксиловой кислоты и 2-аминофенол-4-сульфокислоты.

Получение 3-карбокси-4-оксифенилгидразона ацетилглиоксиловой кислоты. Обычным способом при 0°С диазотировали 2,3 *г* (0,15 М) 5-аминосалициловой кислоты в 38 *мл* концентрированной соляной кислоты и 40 *мл* воды раствором 10,4 *г* нитрита натрия в 50 *мл* воды. Затем 19,5 *г* (0,15 М) ацетоуксусного эфира смешивали с раствором 13,7 *г* $Na_2CO_3$ в 120 *мл* воды в охлаждали до 0°С. В полученную смесь порциями вносили суспензию диазотированного амина; pH раствора, равное 8, поддерживали добавлением раствора соды. Реакционную смесь перемешивали 2 *ч*, подкисляли уксусной кислотой до полного выделения гидразона. Осадок отфильтровывали и кристаллизовали из разбавленного 1:1 спирта. Выход 20,3 *г* (51%). Получали темно-желтые кристаллы; т. пл. 189—190°С.

Омыление эфира. В 50 *мл* 2н. раствора $Na_2CO_3$ растворяли 6,0 *г* гидразона, кипятили 20 *мин*, охлаждали и, добавляя разбавленную соляную кислоту, выделяли гидразон. Очищали кристаллизацией из разбавленного спирта. Выход 4,2 *г* (80%). Получили желтые кристаллы; температура плавления 210—212°С.

Получение формазана. В 50 *мл* 10%-ного раствора NaOH растворяли 6,65 *г* (0,025 М) гидразона и к смеси посте-

пенно прибавляли соль диазония, полученную из 4,95 *г* (0,025 М) 2-аминофенол-4-сульфокислоты. Раствор перемешивали 2 *ч* и оставляли в холодильнике на ночь. Затем подкисляли уксусной кислотой до pH4. Формазан выделяли высаливанием поваренной солью. Очищали кристаллизацией из разбавленного спирта. Выход 6 *г* (55%). Получали красные кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

**1-(2-Окси-5-сульфофенил)-5-(2′-карбоксифенил)-3-цианоформазан, натриевая соль (12).** Получен из 2-окси-5-сульфофенилгидразона цианглиоксиловой кислоты и диазотированной антраниловой кислоты.

Получение 2-окси-5-сульфофенилгидразона цианглиоксиловой кислоты. В 50 *мл* воды смешивали 5,65 *г* (0,05 М) этилового эфира цианоксусной кислоты с раствором 20 *г* ацетата натрия. В смесь постепенно вносили 11,8 *г* (0,05 М) воздушно-сухой соли диазония, приготовленной из 2-аминофенил-4-сульфокислоты. Перемешивали 20 *мин* и добавляли 10—15 *мл* спиртового раствора КОН до выделения осадка по всему объему. Гидразон отфильтровывали и кристаллизовали из воды. Выход 12,5 *г* (75%). Получили желтые кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

Омыление этилового эфира гидразона. В 35 *мл* спирта и 15 *мл* 50%-ного КОН в воде растворяли 5,0 *г* (0,015 М) полученного (см. выше) этилового эфира гидразона. Раствор кипятили 20 *мин*, охлаждали, подкисляли уксусной кислотой до выделения осадка, который отфильтровывали и кристаллизовали из воды. Выход 2,6 *г* (60%). Получили коричневато-желтые кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

Получение формазана. В 50 *мл* 10%-ного раствора NaOH растворяли 5,7 *г* (0,02 М) гидразона и охлаждали до 0° С. К раствору постепенно добавляли диазораствор, полученный из 2,74 *г* антраниловой кислоты. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 *ч* и подкисляли уксусной кислотой. Осадок формазана отфильтровывали и очищали кристаллизацией из разбавленной уксусной кислоты, воды и разбавленного 1 : 1 спирта. Получили коричнево-красные кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

**1-(2-Карбоксифенил)-5-(3′-карбокси-4′-оксифенил)-3-ацетилформазан (13).** Получен из 3-карбокси-4-оксифенилгидразона ацетилглиоксиловой кислоты и диазотированной антраниловой кислоты. В 100 *мл* 10%-ной NaOH растворяли 13,3 *г* (0,05 М) гидразона (получение последнего — см. синтез формазана 11). Смесь охлаждали до 0° С и прибавляли диазораствор, полученный из 6,85 *г* антраниловой кислоты. Раствор сутки выдерживали на холоде, затем подкисляли ледяной уксусной кислотой. Осадок отфильтровывали и кристаллизовали из разбавленного 1 : 1 спирта. Выход 4 *г* (20,4%). Получили почти черные кристаллы, не плавящиеся до 250° С.

## Синтез солей тетразолия

Изучены основные свойства тетразолиевых солей (табл. 2).

**2,3,5-Трифенилтетразолий хлорид (ТС-1).** Получен по известной методике [8].

**2-(2′-Оксифенил)-3,5-дифенилтетразолий хлорид (ТС-2).** В 50 *мл* абс. спирта растворяли 1 *г* 1-(2′-оксифенил)-3,5-дифенилформазана, насыщали сухим хлористым водородом и постепенно прибавляли 1,5 *мл* изоамилнитрита. После обесцвечивания раствор перемешивали в течение 1 *ч*. Выделившийся осадок отфильтровывали, очищали переосаждением из метанола эфиром. Выход 0,72 *г* (65%).

**Тетразолиевые соли ТС-3, ТС-6, ТС-9 — ТС-13.** Получены путем окисления соответствующих формазанов при помощи тетрацетата свинца по следующей общей методике.

При комнатной температуре 2 *г* формазана суспендировали в 100 *мл* 70%-ной уксусной кислоты. В смесь добавляли небольшими порциями тетраацетат свинца до перехода красной окраски раствора в желтую, затем вливали концентрированную соляную кислоту до полного осаждения ионов свинца. Раствор фильтровали, и растворитель отгоняли под вакуумом досуха. Остаток растворяли в абс. спирте, освобождали от небольшого количества хлорида свинца на плотном фильтре и спиртовый раствор прикапывали к 200 *мл* серного эфира при перемешивании. С полученного осадка эфир сливали. Осадок еще раз промывали несколькими порциями эфира, после чего фильтровали и сушили на воздухе или в вакуум-шкафу при 60° С.

**2,3-Дифенилтетразолий хлорид (ТС-9).** Окисление проведено в метиловом спирте. Остаток после отгонки растворителя растворяли в воде, кипятили с углем, фильтровали, упаривали досуха, растворяли в спирте и высаживали эфиром.

**2-(2′-Окси-5′-сульфофенил)-3-(2″-карбоксифенил)-5-амидотетразолий ацетат, натриевая соль (ТС-12).** Получен из формазана 12. В процессе отгонки уксусной кислоты происходит гидролиз циангруппы, на что указывает элементный анализ и ИК-спектр тетразолиевой соли.

**2-(2′-Карбоксифенил)-3-(3″-карбокси-4″-окси-5″-хлорфенил)-5-ацетилтетразолий хлорид (ТС-13).** Получен из формазана 13. В процессе окисления происходит хлорирование по фенильному кольцу, что подтверждает элементный анализ на содержание связанного и ионного хлора.

**2-(2′-Карбоксифенил)-3-(2″-окси-5″-сульфофенил)-5-ацетилтетразолий, внутренняя соль (ТС-3а).** В 200 *мл* воды растворяли 2 *г* натриевой соли формазана 3 и пропускали через смолу КУ-2 в *Н*-форме. Раствор упаривали в вакууме досуха, растворяли в 50 *мл* метилового спирта, добавляли 100 *мл* 70%-ной уксусной кислоты и далее окисляли по общему методу. Выход 1,2 *г* (60%).

Таблица 3

**Токсичность и противолучевая активность солей тетразолия**

| № соединения | Мол. вес | Токсическая доза, *мМ/кг* | Противолучевая активность | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Вводимая доза, *мМ/кг* | Время введения до облучения, *мин* | Выживаемость, % |
| 1 | 334,8 | 2,09 | 1,49 | 3—5<br>15<br>20 | 17<br>42<br>58 |
| 2 | 350,8 | 0,057 | 0,016 | 15 | 0 |
| 3а | 404,4 | 0,099 | 0,012<br>0,024 | 5<br>20<br>сразу<br>15—20 | 8<br>66<br>0<br>40 |
| 4 | 454 | >2,0 | 1,0 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| 5 | 470 | >2,0 | 1,0 | 15<br>30 | 0<br>10 |
| 6 | 378,8 | 0,6 | 0,4<br>0,5 | 15<br>15 | 0<br>16 |
| 7 | 394,3 | 0,15 | 0,05 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| 8 | 392,3 | 0,15 | 0,05 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| 9 | 258,7 | 0,15 | 0,05 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| 10 | 422,4 | >2,0 | 1,0 | 15<br>30 | 0<br>0 |
| 11 | 502,4 | >2,0 | 1,0 | 15<br>30 | 0<br>8 |
| 12 | 496,4 | >2,0 | 1,0 | 15<br>30 | 0<br>8 |
| 13 | 439,2 | >2,0 | 1,0<br>1,5 | 15<br>15<br>30 | 16<br>0<br>0 |

**2,3-Ди-(2′-окси-5′-сульфофенил(-5-ацетилтетразолий, внутренняя соль (ТС-4).** Формазан 4 в кислой форме (2 *г*), полученной пропусканием через смолу КУ-2, в 10 *мл* воды и 20 *мл* спирта, окисляли тетраацетатом свинца по общему методу. Состав после удаления ионов свинца упаривали на водяной бане до сиропообразной массы, которую затем растворяли в этаноле, фильтровали и снова упаривали. Остаток растворяли в горячей уксусной кислоте, из которой после охлаждения выделяли кристаллы кремового цвета. Выход количественный.

**2-(2′-Метокси-5′-сульфофенил)-3-(2″-окси-5″-сульфофенил)-5-ацетил-тетразолий, внутренняя соль (ТС-5).** Получен из формазана 5 в кислой форме аналогично ТС-4. Выход количественный.

**2,3-Дифенил-5-морфолинилметилентетразолий дихлорид (ТС-7).** Получен окислением формазана 7 изоамилнитритом в спирте. В 80 *мл* этилового спирта растворяли 1,8 *г* хлоргидрата формазана, добавляли 25 *мл* спирта, насыщенного HCl, и 1,4 *мл* изоамилнитрита. Состав выдерживали 2 суток и после полного обесцвечивания растворитель упаривали. Остаток растворяли в воде, кипятили с углем, фильтровали и снова упаривали досуха, затем растворяли в спирте и высаживали эфиром. Вещество кристаллизовали из спирта. Выход 1,4 *г* (70%).

**2, 3-Дифенил-5-пиперидинометилентетразолий хлорид (ТС-8).** Получен окислением формазана 8 изоамилнитритом в спирте аналогично ТС-7. Выход 82%.

### Биологические испытания

Тетразолиевые соли испытаны на токсичность и противолучевую активность по методике [9] на мышах линии BALB и CBA.

**Токсичность.** Тетразолиевые соли, содержащие в положении 5 (у атома углерода тетразольного цикла) водород (ТС-9), пиперидилметилен (ТС-8) и морфолинометилен (ТС-7), оказались токсичными: доза 0,15 *мМ/кг* вызывала гибель мышей (табл. 3). Токсичность снижалась, если в положение 5 вводили фенильный радикал, а в параположение 3-фенильного остатка — карбоксильную группу (ТС-6), и была незначительной (2,09 *мМ/кг*), когда фенильные радикалы не имели заместителей (ТС-1). Два соединения: 2-(2′-оксифенил)-3, 5-дифенил тетразолий хлорид (ТС-2) и 2-(2′-окси-5′-сульфофенил)-3-(2″-карбоксифенил)-5-ацетил тетразолий (ТС-3а) — мало растворимы. Остальные испытанные соли тетразолия обладают низкой токсичностью: доза в пределах 2 *мМ/кг* не вызывала гибели животных (в табл. 3 эти данные приведены со знаком $>$).

**Противолучевая активность.** Водные растворы тетразолиевых солей вводили внутрибрюшинно за 3—30 *мин* до облучения в дозах 0,15—1,5 *мМ/кг*. Из 13 испытанных соединений лишь два проявили противолучевую активность. Наибольшую защиту (вы-

жило 66% животных) оказал 2-(2′-окси-5′-сульфофенил)-3-(2″-карбоксифенил)-5-ацетил тетразолий (ТС-3а), введенный за 20 мин до облучения в дозе 0,01 *мМ/кг*. Увеличение введенного количества вещества снизило противолучевую активность вдвое (до 40%). Трифенилтетразолий хлорид (ТС-1) защитил 58% мышей при введении 1,49 *мМ/кг* за 20 *мин* до облучения. Остальные препараты противолучевой активности не проявили.

Сопоставление противолучевой активности тетразолиевых солей с потенциалом восстановления их в формазаны не выявляет связи между биологической активностью этих веществ и их редокс-потенциалом.

## Выводы

1. Соли тетразолия, содержащие при атоме углерода тетразольного цикла радикал H, морфолинилметилен, пиперидинилметилен или фенил, оказались токсичными. Для соединений, содержащих заместители в фенильных радикалах в положении 2 и 3, токсическая доза превышает 2 *мМ/кг*.

2. Из 13 испытанных солей противолучевую активность проявили два: 2-(2′-карбоксифенил)-3-(2″-окси-5″-сульфофенил)-5-ацетилтетразолий (выжило 66% животных) и трифенилтетразолий хлорид (58%).

3. Не найдено корреляции между защитной активностью и восстановительным потенциалом испытанных веществ.

## ЛИТЕРАТУРА


1. W. D. Hooper. Rev. Pure Appl. Chim., 1969, **19**, 221.
2. W. Ried, M. Wilk. J. Lieb. Ann., 1953, **581**, 49.
3. R. Ralea, M. Alexa-Petrovanu. Rev. Chem., 1956, **1**, 69.
4. A. M. Mattson, C. O. Jensen, R. A. Dutcher. J. Amer. Chem. Soc., 1948, **70**, 1234.
5. R. Wizinger, V. Biro. Helv. Chim. Acta, 1949, **32**, 901.
6. М. И. Ермакова, И. Я. Постовский. Ж. общ. хим., 1964, **34**, 2855.
7. Houben-Weyl. Metoden der Organischen Chemie. Stuttgart, 1965, стр. 635.
8. H. V. Pechmann, P. Runge. Ber., 1894, **27**, 2920.
9. И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин, И. Я. Постовский, В. И. Филякова, Э. А. Тарахтий. Статья в наст. сб., стр. 3.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*Л. Н. Расина, Д. И. Семенов*

# ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ КРИПТ МЫШЕЙ, ОБЛУЧЕННЫХ И ЗАЩИЩЕННЫХ МЕРКАМИНОМ

Известно [1, 2, 3], что тонкий кишечник — наиболее радиочувствительный отдел желудочно-кишечного тракта, одним из проявлений реакции его на облучение является резкое сокращение численности клеточной популяции эпителия слизистой. Большой интерес представляет изучение динамики изменения количества разных типов клеток в криптах и на ворсинках (призматических, панетовских, бокаловидных, энтерохромаффинных) после облучения организмов, незащищенных или защищенных радиопротекторами.

## Материал и методика

Изучали во времени (30, 60 *мин*; 3, 6, 12 *час*; 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 24, 32, 48, 62, 90 и 120 суток) число эпителиальных клеток крипты на продольных срезах 12-перстной кишки мышей: а) контрольных; б) получивших внутрибрюшинно меркамин — 150 *мг* на 1 *кг* веса; в) облученных, г) защищенных меркамином — 150 *мг* на 1 *кг* вводили внутрибрюшинно за 20 *мин* до облучения.

В опытах использовали 3-месячных мышей-самцов линии BALB весом 20—25 *г*. Облучение проводили однократно тотально на установке ГУТ-Со-400 дозой 610 *р* гамма-лучей (СД 65/30); расстояние от источника 38 *см*; фильтры: 0,5 *мм* латуни, 15 *мм* гетинакса; мощность облучения 32—28 *р/мин*.

Для каждого срока наблюдений забивали декапитацией по 5—10 мышей. Участок 12-перстной кишки в 1,5 *см* от пилоруса фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине; парафиновые срезы толщиной 6—7 *микрон* окрашивали гематоксилин-эозином; подсчитывали число эпителиальных клеток в 10 и митозов в 25 криптах, учитывали число бокаловидных клеток. Результаты (см. таблицу) обработаны статистически по критерию Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

У облученных мышей митотическая активность (МА) отсутствовала уже к 30 *мин*. Между 12—24-м часом в крипте было 0,5—0,7 митозов, что составляло 20% от контроля, ко 2-м суткам — 1,3, на 3—4-е — выше нормы (5,0—4,7; 195—181%). Затем значения МА уменьшались к 8-м суткам до 3 (118%); позднее, вплоть до 120 суток, отмечены колебания ниже нормы (~85%).

Под влиянием меркамина у интактных животных МА падала к 30 *мин* до 24% (0,6), к 60 *мин* возрастала до 92% (2,4), в дальнейшем уровень МА колебался в промежутке между 42 и 100%.

У защищенных протектором мышей так же, как и у незащищенных, МА падала почти до 0 к 60 *мин*; к 12-му часу возрастала до 0,6, что составляло 24%; к 1—2-м суткам была ниже, чем у незащищенных (0,2—0,5; 9—18%), так как не только облучение но и сам меркамин к этому сроку снижал МА до 42%; к 3—4-м — приближалась к норме. После 12 суток значения МА колебались, затухая к концу опыта и оставаясь, как и у незащищенных, ниже нормы.

Облучение вызывало снижение числа эпителиальных клеток в криптах слизистой тонкого кишечника к 12-му часу с 44 до 34, что составляло 78%, минимум клеток отмечали на 1—2-е сутки (до 30; 68%), к 3-м — клеточность достигала нормы, на 4-е — значительно превосходила ее (65 клеток; 150%), к 12-м — вновь приближалась к норме (109%).

Меркамин у интактных животных первоначально незначительно повышал число клеток к 60 *мин* (до 48), затем клеточность снижалась ко 2-м суткам до 40 (90%), а в дальнейшем колебалась несколько ниже нормы.

У защищенных меркамином мышей число клеток статистически достоверно повышалось к 3-му часу после облучения до 106%, затем снижалось к концу 1-х суток до 31,4 (71%), ко 2-м — до 27,4 (62%), к 3-м (т. е. раньше, чем у незащищенных) — резко возрастало до 57 (129%), а к 4-м — до 60 (135%), т. е. в меньшей степени, чем у незащищенных. К 8-м суткам число клеток уменьшалось, приближаясь к 12-м суткам к норме (109%); в более поздние сроки отмечены затухающие колебания. Таким образом, у защищенных мышей падение числа клеток менее растянуто во времени, превышение нормы не столь выражено, как и колебания, начиная с 12-х суток.

Реакция секретирующих слизь клеток была более выраженной, чем призматических (см. таблицу): число их уже к 30 *мин* падало с 5 до 4 клеток в крипте (80%); минимальное значение общей клеточности составляло 68—70% (1—2-е сутки), а бокаловидных клеток — 8% (3-и сутки). Наблюдаемое отставание во времени согласуется с мнением авторов [4] о том, что бока-

**Динамика изменений митотической активности, общего числа эпителиальных и числа бокаловидных клеток в крипте слизистой 12-перстной кишки мышей**

| Время | Число митозов | | | Общее число эпителиальных клеток по средней линии | | | Число бокаловидных клеток | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Облучение | Облучение+меркамин | Меркамин | Облучение | Облучение+меркамин | Меркамин | Облучение | Облучение+меркамин | Меркамин |
| Контроль | 2,6±0,06 | | | 44,5±0,71 | | | 5,3±0,15 | | |
| Минуты | | | | | | | | | |
| 30 | 0 | 1,0±0,06 | 0,6±0,05 | 45,1±0,49 | 44,4±0,59 | 46,0±0,62 | 3,9±0,14 | 4,8±0,14 | 4,9±0,17 |
| 60 | 0 | 0,07±0,02 | 2,4±0,06 | 43,1±0,34 | 46,2—0,44 | 47,9±0,43 | 4,5±0,20 | 4,9±0,19 | 4,6±0,15 |
| Часы | | | | | | | | | |
| 3 | 0 | 0,1±0,01 | 2,1±0,05 | 41,9±0,59 | 46,8±0,65 | 45,8±0,53 | 4,3±0,18 | 4,6±0,22 | 5,4±0,19 |
| 6 | 0,2±0,03 | 0 | 1,8±0,07 | 41,6±0,54 | 43,6±0,53 | 45,0±0,63 | 4,4±0,12 | 4,9±0,72 | 4,9±0,28 |
| 12 | 0,8±0,06 | 0,6±0,06 | 1,7±0,05 | 34,4±0,49 | 42,9±0,96 | 43,5±0,52 | 4,3±0,18 | 4,3±0,12 | 4,4±0,16 |
| Сутки | | | | | | | | | |
| 1 | 0,5±0,06 | 0,2±0,05 | 1,1±0,06 | 30,0±0,88 | 31,4±0,53 | 42,3±0,55 | 3,6±0,19 | 3,2±0,12 | 5,2±0,16 |
| 2 | 1,3±0,07 | 0,5±0,05 | 1,6±0,05 | 30,7±0,44 | 27,4±0,63 | 39,9±0,47 | 1,4±0,13 | 1,9±0,12 | 4,8±0,16 |
| 3 | 5,1±0,09 | 2,9±0,1 | 2,6±0,07 | 43,5±0,74 | 57,0±0,75 | 45,3±0,74 | 0,4±0,08 | 1,3±0,11 | 5,5±0,15 |
| 4 | 4,7±0,1 | 3,0±0,05 | 2,3±0,07 | 65,3±1,08 | 59,7±0,57 | 41,7±0,60 | 7,4±0,36 | 4,2±0,13 | 4,8±0,17 |
| 8 | 3,1±0,08 | 2,3±0,07 | 2,1±0,07 | 55,0±1,07 | 50,4±1,01 | 42,3±0,44 | 5,5±0,25 | 4,4±0,12 | 4,6±1,33 |
| 12 | 3,5±0,09 | 3,1±0,07 | 2,6±0,06 | 48,2±0,59 | 47,9±0,76 | 44,1±0,40 | 2,4±0,14 | 4,2±0,13 | 3,9±0,20 |
| 16 | 2,2±0,08 | 1,6±0,05 | 2,3±0,06 | 41,9±0,58 | 47,9±0,52 | 45,0±0,77 | 3,8±0,17 | 4,6±0,10 | 4,2±0,12 |
| 24 | 2,1±0,06 | 2,2±0,9 | 2,1±0,06 | 39,9±0,33 | 44,2±0,46 | 40,8±0,27 | 4,8±0,17 | 4,7±0,13 | 4,5±0,11 |
| 32 | 3,1±0,08 | 2,3±0,07 | 2,1±0,06 | 51,0±0,75 | 45,7±0,40 | 40,8±0,44 | 5,5±0,23 | 5,5±0,12 | 3,7±0,16 |
| 48 | 1,6±0,07 | 1,6±0,06 | 1,8±0,06 | 42,3±0,44 | 47,2±0,58 | 43,4±0,40 | 3,9±0,16 | 4,9±0,13 | 4,7±0,18 |
| 62 | 2,3±0,07 | 2,1±0,08 | 2,2±0,06 | 48,1±0,66 | 43,3±0,97 | 43,4±0,43 | 4,9±0,16 | 4,7±0,12 | 4,2±0,14 |
| 90 | 2,1±0,05 | 2,0±0,06 | 1,8±0,06 | 47,5±0,69 | 46,2±0,52 | 41,2±0,45 | 5,3±0,22 | 4,2±0,14 | 4,7±0,15 |
| 120 | 2,3±0,08 | 2,1±0,06 | 2,4±0,06 | 50,9±0,56 | 44,8±0,47 | 41,1±0,35 | 4,3±0,12 | 4,8±0,15 | 5,5±0,23 |

Примечание. Исследовано животных: контрольных — 21 шт., получивших меркамин и необлученных — 102 шт., облученных — 116 шт., получивших меркамин до облучения — 108 шт.

ловидные клетки — результат дифференцировки эпителиальных клеток. К 4-м суткам число бокаловидных клеток значительно возрастало (7,4; 141%), к 8-м возвращалось к норме (105%), к 12-м резко падало до 45%, к 32-м суткам вновь достигало нормы, позднее колебалось между 63 и 85%.

Рассматривая бокаловидные клетки как дифференцировавшиеся из эпителиальных, колебания их численности (начиная с 3-х суток), наблюдаемые в процессе восстановления после облучения, можно объяснить чередованием преобладаний пролиферации или дифференциации клеток [5].

Меркамин у интактных животных первоначально также снижал количество бокаловидных клеток к 60 *мин* до 87%. Видимо, в результате стресса, вызванного облучением или субтоксической дозой протектора, происходит выброс слизи и бокаловидные клетки становятся с какого-то момента нераспознаваемыми. К 3-му часу их число нормализовалось, в последующие часы колебалось, на 1-е и 3-и сутки достигало нормы, на более поздних сроках оставалось ниже нормы.

У защищенных протектором мышей число бокаловидных клеток также уменьшалось, но снижение было менее выраженным, чем у облученных, а минимальное значение к 3-м суткам составляло 27% против 8 у незащищенных; отсутствовал также выраженный подъем к 4-м суткам.

Таким образом, меркамин не предотвращал, хотя и сокращал, длительность падения числа эпителиальных клеток крипт. Однако, по-видимому, он ослаблял степень поражения клеток, в связи с чем была менее выражена компенсаторная реакция (временное резкое превышение исходной клеточности) при восстановлении. У защищенных животных, вероятно, система эпителия была менее расшатана, насколько можно судить по незначительным колебаниям клеточности, что особенно видно на секретирующих слизь клетках.

## ЛИТЕРАТУРА

1. И. Б. Смирнова. Радиобиология, 1961, 1, 2, 264.
2. Е. Н. Кабаков. Studia biophysica, 1969, 13, 1, 27.
3. М. И. Федотова, Л. М. Рождественский. Радиобиология, 1970, 10, 6, 882.
4. G. Wiernik, M. Plant. Brit. J. Radiology, 1971, 44, 348.
5. А. М. Кононенко, Б. И. Монастырская, Ю. Фольке. Цитология, 1974, 16, 6, 757.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*И. А. Шихова, М. И. Ермакова, Н. И. Латош*

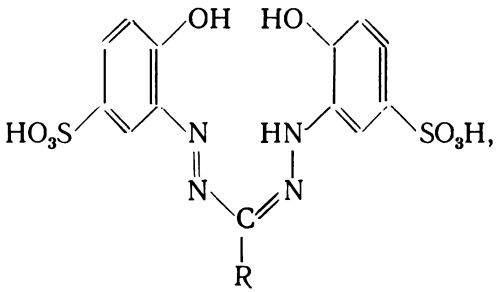
# КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ФОРМАЗАНОВ С ИТТРИЕМ И ЦЕРИЕМ

Формазаны способны выводить из организма животных ванадий и ртуть [1]. В водных растворах они образуют прочные глубокоокрашенные комплексы.

Катионы $Y^{3+}$ и $Ce^{3+}$ образуют с некоторыми формазанами глубокоокрашенные прочные комплексы [2]. Цель настоящей работы — выяснить природу влияния заместителей в мезоположении и в фенильных кольцах водорастворимых формазанов, содержащих в ортоположении к формазанной цепи комплексообразующие группы, на область существования и прочность комплексов с иттрием и церием.

Синтезы водорастворимых формазанов условно можно разделить на несколько групп [3—5].

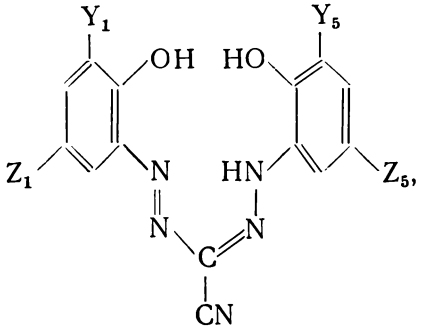
1. Симметричные 1,5-ди-(2′-окси-5′-сульфофенил) формазаны (I—IV), содержащие в мезоположении различные по электроноакцепторности заместители (фенил-, ацетил-, циан- и нитрогруппу):




где R: $C_6H_5$ (I), $COCH_3$ (II), $C{\equiv}N$ (III), $NO_2$ (IV).

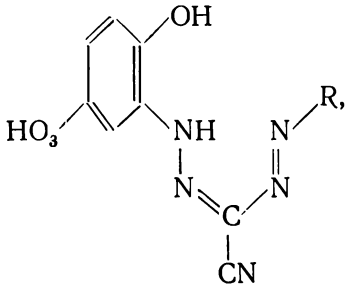
2. Симметричные мезоцианформазаны (V—VII), содержащие, наряду с оксигруппами, в ортоположении к формазанной цепи

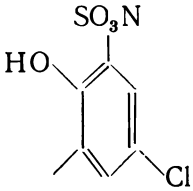
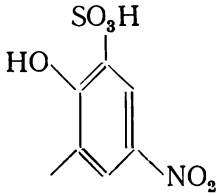
в фенильных кольцах при $N_1$ и $N_5$ заместители хлор-, нитро- и карбоксильную группу:

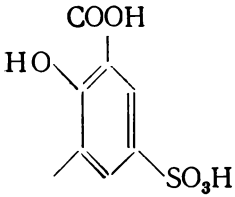
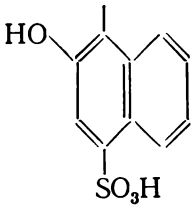
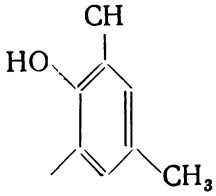


где $Y_1=Y_5$:$SO_3H$ (V, VI), COOH (VII); $Z_1=Z_5$:Cl (V), $NO_2$ (VI), $SO_3H$ (VII).

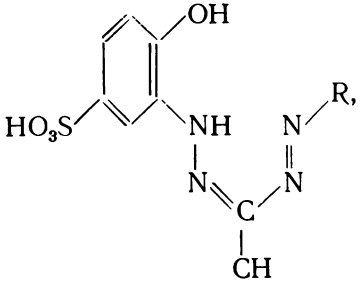
3. Несимметричные мезоцианформазаны (VIII—XII), содержащие 2″-окси-5″-сульфофенильный остаток при $N_5$ и 2′-оксифенильные остатки при $N_1$ с дополнительными заместителями:



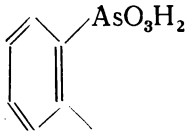
где R:  (VIII),  (IX),

 (X),  (XII),  (XI)

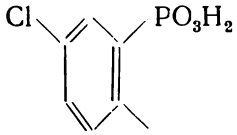
4. Формазаны этой группы (XIII—XV) содержат при $N_1$ в ортоположении к формазанной цепи вместо фенольного гидроксила солеобразующие заместители ($AsO_3H_2$, $PO_3H_2$ и COOH):



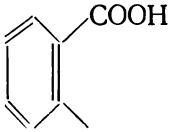
где R:



(XIII),



(XIV),



(XV).

Для синтеза формазанов были использованы известные методы: взаимодействие солей диазония с гидразонами или соединениями, содержащими активные метиленовые группы (например, этиловыми эфирами замещенных глиоксиловых кислот или свободными глиоксиловыми кислотами).

Формазаны были выделены в виде K- или Na-солей. Они представляют собой глубокоокрашенные соединения (от оранжево-красного до темно-коричневого), не имеют температур плавления, разлагаются при нагревании выше 250° C, плохо или совсем нерастворимы в органических растворителях, хорошо растворимы в воде и прочно удерживают кристаллизационную воду.

Комплексообразование формазанов I—XV с катионами $Y^{3+}$ и $Ce^{3+}$ мы изучали потенциометрическим (прибор ЛПУ-01) и спектрофотометрическим методами. При потенциометрическом титровании соединений в присутствии $Y^{3+}$ и $Ce^{3+}$ наблюдается (рис. 1) снижение pH раствора и выделение в большинстве случаев трех протонов, соответствующих протонам фенольных гидроксилов (или ортосолеобразующих групп) и иминогрупп формазанов. Образование комплексных соединений подтверждается значительным углублением окраски растворов (см. таблицу).

Так же, как и другие комплексообразователи, формазаны реагируют с катионами металлов в определенной области pH. Оптимальную область pH комплексообразования формазанов с иттрием и церием определяли по кривым потенциометрического титрования формазана в присутствии катионов при количестве прибавлен-

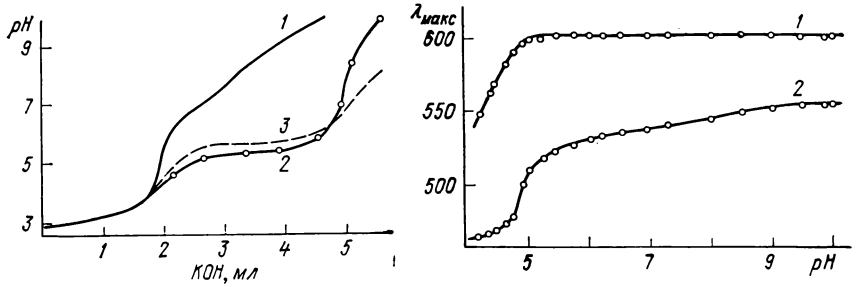



Рис. 1. Кривые потенциометрического титрования формазана XII в отсутствие катионов (*1*) и в присутствии $Y^{3+}$ (*2*) и $Ce^{3+}$ (*3*); $C_ф = C_м = 5 \cdot 10^{-4}$; $v_0 = 50$ *мл*; $\mu = 0{,}1$ ($NaNO_3$).

Рис. 2. Зависимость положения максимума поглощения в видимой области комплекса формазана IX с иттрием (*1*) и формазана (*2*) от pH раствора.

ного КОН, близком к пяти эквивалентам, и уточняли спектрофотометрически из зависимости положения максимума поглощения комплекса от pH раствора (рис. 2). Характерная особенность катионов $Y^{3+}$ и $Ce^{3+}$ — склонность к гидролизу [6]. Мешающее действие гидролиза сказывается на оптимальной области pH комплексообразования: происходит сужение области $pH_{опт}$ в результате смещения верхнего предела pH комплексообразования в кислую область.

Состав комплексов формазанов с иттрием и церием изучали спектрофотометрически — методом изомолярных серий и методом переменной концентрации одного из компонентов при постоянной концентрации другого [7, 8]. В качестве примера на рис. 3 приведены данные по определению обоими методами состава комплексов соединений XIII и XV с иттрием. Найдено, что состав комплексов всех изученных формазанов с иттрием и церием отвечает соотношению 1Ф:1М.

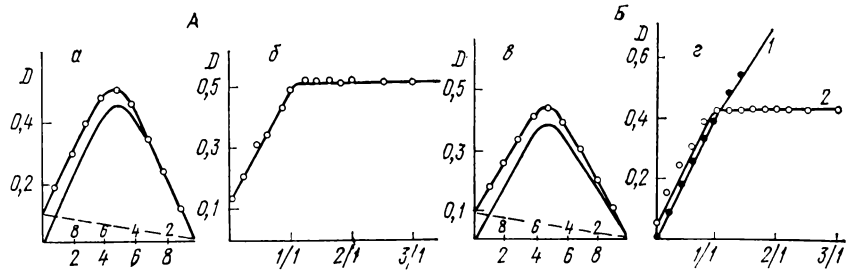



Рис. 3. Определение состава комплексов формазанов XIII (*А*) и XV (*Б*) методом изомолярных серий (*а*, *в*) и методом переменной концентрации иттрия (*2*) и формазана (*1*) при постоянной концентрации другого компонента (*б*, *г*).

*А*: pH=7,0; λ=555 *нм*. *Б*: pH=6,4; λ=590 *нм*.

**Свойства комплексов формазанов с иттрием и церием**

| № формазана | $pH_{опт}$ | $\lambda_{макс}$ | $\Delta\lambda$ | $lgK_{уст}$ | $pH_{опт}$ | $\lambda_{макс}$ | $\Delta\lambda$ | $lgK_{уст}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $Y^{3+}$ | | | | $Ce^{3+}$ | | | |
| I | 6,4—7,0 | 590 | 40 | 13,90 | 7,2—7,5 | — | — | — |
| II | 6,0—7,0 | 560 | 60 | 16,10 | 6,9—8,0 | 550 | 40 | 13,94 |
| III | 5,7—7,1 | 590 | 90 | 14,57 | 6,0—7,0 | 590 | 90 | 13,08 |
| IV | 5,0—6,5 | 560 | 50 | 16,11 | 5,6—6,7 | 540 | 40 | 14,57 |
| V | 5,5—8,5 | 570 | 70 | 15,52 | 5,6—8,5 | 580 | 80 | 14,62 |
| VI | 4,8—7,5 | 610<br>645 | 90<br>125 | 11,36 | 5,2—7,5 | 610 | 50 | 12,55 |
| VII | 5,8—8,0 | 563 | 63 | 18,56 | 6,4—8,0 | 565 | 65 | 16,95 |
| VIII | 5,2—6,8 | 600 | 100 | 16,28 | 5,5—7,3 | 590 | 90 | 11,00 |
| IX | 4,2—7,0 | 600<br>635 | 120<br>155 | 8,72 | 4,7—8,0 | 605 | 105 | 6,86 |
| X | — | — | — | 18,09 | 6,4—8,2 | 520 | 30 | 16,72 |
| XI | 7,8—8,7 | 510 | 10 | 12,22 | — | 510 | 0 | 9,95 |
| XII | 5,7—8,5 | 690 | 150 | 13,27 | 6,0—7,5 | 670 | 130 | 12,60 |
| XIII | 6,5—7,0 | 575 | 110 | 9,54<br>10,80 | 9,0—9,5 | 520 | 0 | 6,67 |
| XIV | 7,7—8,5 | 500 | 15 | 9,84 | — | — | — | — |
| XV | 5,6—6,3 | 583 | 120 | 17,80 | 6,2—6,7 | 570 | 100 | 15,65 |

По кривым потенциометрического титрования водных растворов формазанов I—XV в присутствии нитратов иттрия и церия рассчитаны константы устойчивости комплексов формазанов с этими катионами методом Бьеррума, описанным в работе [9]. Расчет проводили алгебраически через функцию образования $\bar{n}$. Если при комплексообразовании выделялись три протона, использовали следующие уравнения для расчета функции образования $\bar{n}$, концентрации свободного лиганда [Ф] и константы устойчивости комплекса $K_{уст}$:

$$\bar{n}=\frac{C_{ф}-\frac{\alpha}{\beta}(3C_{ф}-[KOH]-[Д]}{C_{м}};\quad [Ф]=\frac{3C_{ф}-[KOH]-[H]}{\beta};$$

$$K_{уст}=\frac{\bar{n}}{(1-\bar{n})\cdot[Ф]},$$

где

$$\alpha=\frac{[H]}{K_3}+\frac{[H]^2}{K_2K_3}+\frac{[H]^3}{K_1K_2K_3}+1;$$

$$\beta=\frac{[H]}{K_3}+\frac{2[H]^2}{K_2K_3}+\frac{3[H]^3}{K_1K_2K_3};$$

$K_1$, $K_2$ и $K_3$ — константы диссоциации групп, принимающих участие в комплексообразовании. В том случае, когда в комплексообразовании участвовали только две группы и выделялось два протона, формулы для $\alpha$, $\beta$ и [Ф] соответственно видоизменялись.

Расчет $K_{уст}$ проводили из графической зависимости $\bar{n}=f(1/[Ф])$. При $\bar{n}/(1-\bar{n})=1$, т. е. $\bar{n}=0{,}5$, значение $\lg(1/[Ф])$ численно равно $\lg K_{уст}$.

Для комплекса формазана XIII с иттрием величина $K_{уст}$ была определена также спектрофотометрически методом Ирвинга — Россотти, подробно описанным О. В. Коньковой [10].

Константы устойчивости большинства формазанов с иттрием и церием имеют средние величины ($\lg K_{уст}$ для комплексов иттрия равен 11—16, для комплексов церия — несколько ниже: 10—14). Устойчивость комплексов повышается при введении в фенильные кольца формазанов в ортоположение к фенольным гидроксилам карбоксильных групп ($\lg K_{уст}$ комплексов иттрия с формазанами VII и X равны 18,56 и 18,09, а комплексов церия — 16,95 и 16,72), а также при замене одного из фенольных гидроксилов, например, при $N_1$ в формазане XV фосфоновой группой ($\lg K_{уст}$ комплекса иттрия с формазаном XV составлял 17,80, а комплекса церия — 15,65).

Устойчивость комплексов иттрия и церия с формазанами при pH 7,3—7,4 дает возможность предположить, что и в условиях организма формазаны будут давать довольно прочные комплексы с иттрием и церием. Для испытаний в качестве антидотов органические комплексообразователи должны обладать рядом необходимых свойств [11], в том числе прочность комплексов с $Ca^{2+}$ должна быть значительно ниже, чем с катионами тяжелых металлов. Формазаны удовлетворяют этому требованию: ни одно из изученных соединений не реагирует с катионами $Ca^{2+}$ при pH 7,3—7,4 и лишь при pH 9—10 образуются мало прочные комплексы. Исключением являются формазаны IV и V; прочность комплексов с кальцием для них несколько выше ($\lg K_{уст}$ соответственно 8,75 и 8,50, а оптимальная область pH комплексообразования 8,3—9,5 и 10,0—10,5).

Учитывая хорошую растворимость в воде формазанов и их комплексов с металлами, низкую токсичность и приведенные выше данные, можно считать, что они представляют интерес как потенциальные детоксиканты тяжелых металлов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. К. Н. Клячина, И. А. Шихова, Н. И. Латош. Вопросы экспериментальной и клинической терапии и профилактики промышленных интоксикаций. Тр. НИИ гигиены труда и профзаболеваний. Свердловск, 1974, стр. 103.

2. И. А. Шихова, М. И. Ермакова, Н. И. Латош. Ж. общ. хим., 1971, **41**, 6, 1329.

3. И. А. Шихова. Формазаны. Синтез, свойства, применение. Тр. Ин-та химии УНЦ АН СССР, 1974, вып. 30, стр. 18.

4. И. А. Шихова, Н. И. Латош. Там же, стр. 31.

5. И. А. Шихова. Там же, стр. 40.

6. А. Б. Шалинец. Радиохимия,1972, **14**, 173.
7. P. Job. Ann. Chim., 1928, **9**, 113.
8. А. К. Бабко, А. Т. Пилипенко. Фотометрический анализ. М., «Химия», 1968.
9. Ф. Россотти, Х. Россотти. Определение констант устойчивости и других констант равновесия в растворах. М., «Мир», 1965, стр. 58, 108.
10. О. В. Конькова. Ж. анал. хим., 1964, **19**, 73.
11. Ю. Ф. Коваль. Ускорение выведения из организма радиоактивных изотопов. М., Атомиздат, 1972, стр. 30.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

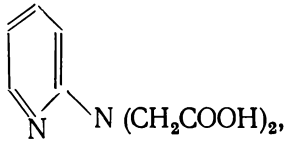
*И. М. Белова, Н. И. Латош, Д. И. Семенов,*
*Е. И. Сухачева, Г. А. Меньшикова, Т. П. Архипова*

# КОМПЛЕКСОНЫ НА ОСНОВЕ АМИНО- И ДИАМИНОПИРИДИНОВ

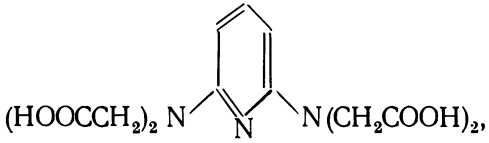
Поскольку комплексообразующие свойства пиридина и ряда его производных общеизвестны, мы предприняли попытку получить несколько комплексонов, содержащих в своем составе пиридиновый цикл, и провели их биологические испытания.

Нами синтезированы следующие комплексоны:

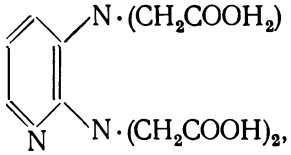
2-аминопиридиндиуксусная кислота (I)



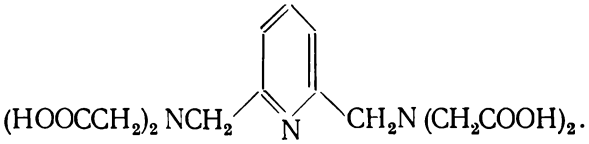
2,6-диаминопиридинтетрауксусная кислота (II)



2,3-диаминопиридинтетрауксусная кислота (III)



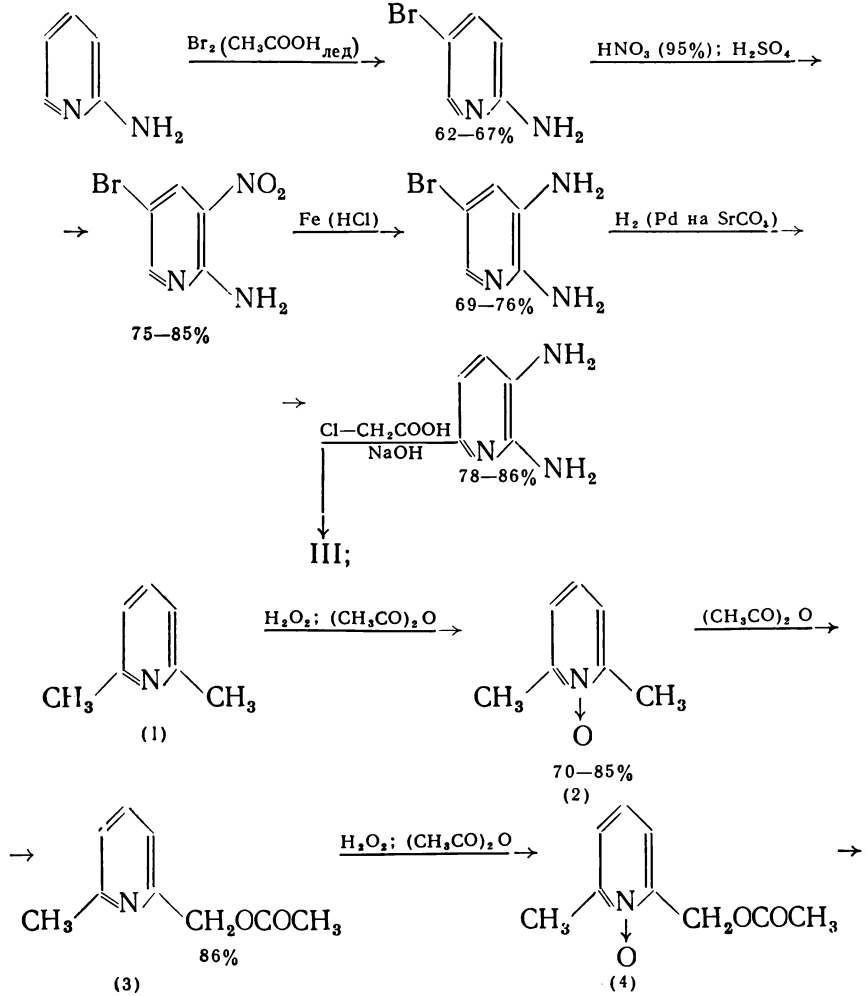
2,6-диаминометилпиридинтетрауксусная кислота (IV)

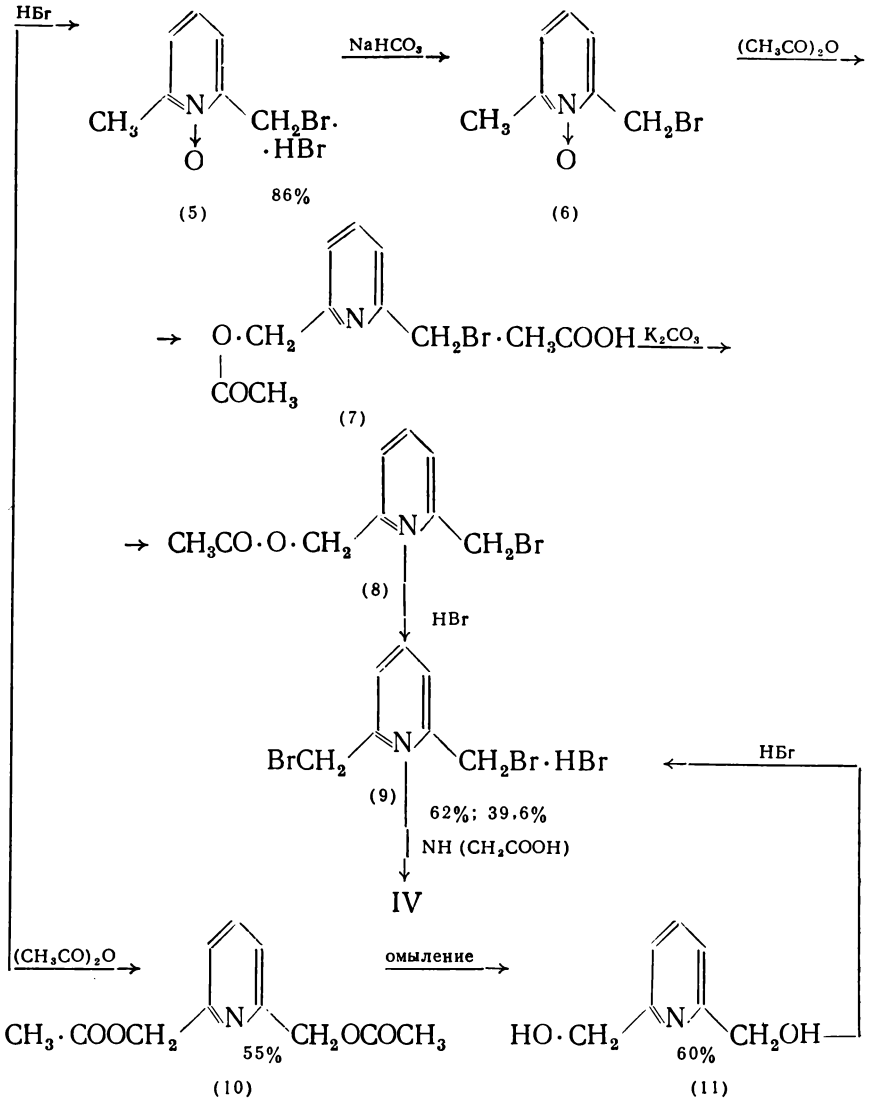


Мы исходили из предположения, что соединения III и IV могут рассматриваться как структурные аналоги таких известных

комплексонов, как 1,2-диаминоциклогексантетрауксусная кислота (ЦГТА) и диэтилентриаминпентауксусная кислота (ДТПА), в которых свободное вращение вокруг простых связей затруднено пиридиновым циклом. При этом представляло интерес проследить влияние атома азота пиридинового цикла на комплексообразующие свойства в сравнении с аналогичными соединениями.

Соединения I и II получены соответственно из продажных α-аминопиридина и 2,6-диаминопиридина в реакции с моногалоидуксусной кислотой в щелочной среде; комплексоны III и IV — соответственно из диамина и гидробромида 2,6-ди (бромметил), пиридина, синтез которого описан в [1]. Получение комплексонов III и IV осуществлялось в результате следующих многостадийных процессов:






Синтез комплексона IV можно осуществить как из 2,6-бис(аминометил)пиридина с какой-либо из моногалогенуксусных кислот, так и из 2,6-ди(бромметил)пиридина и иминодиуксусной кислоты. Однако указанный диамин, согласно литературным данным [16], является труднодоступный соединением. Его получают при восстановлении динитрила 2,6-лутидиновой кислоты хромацетатом или

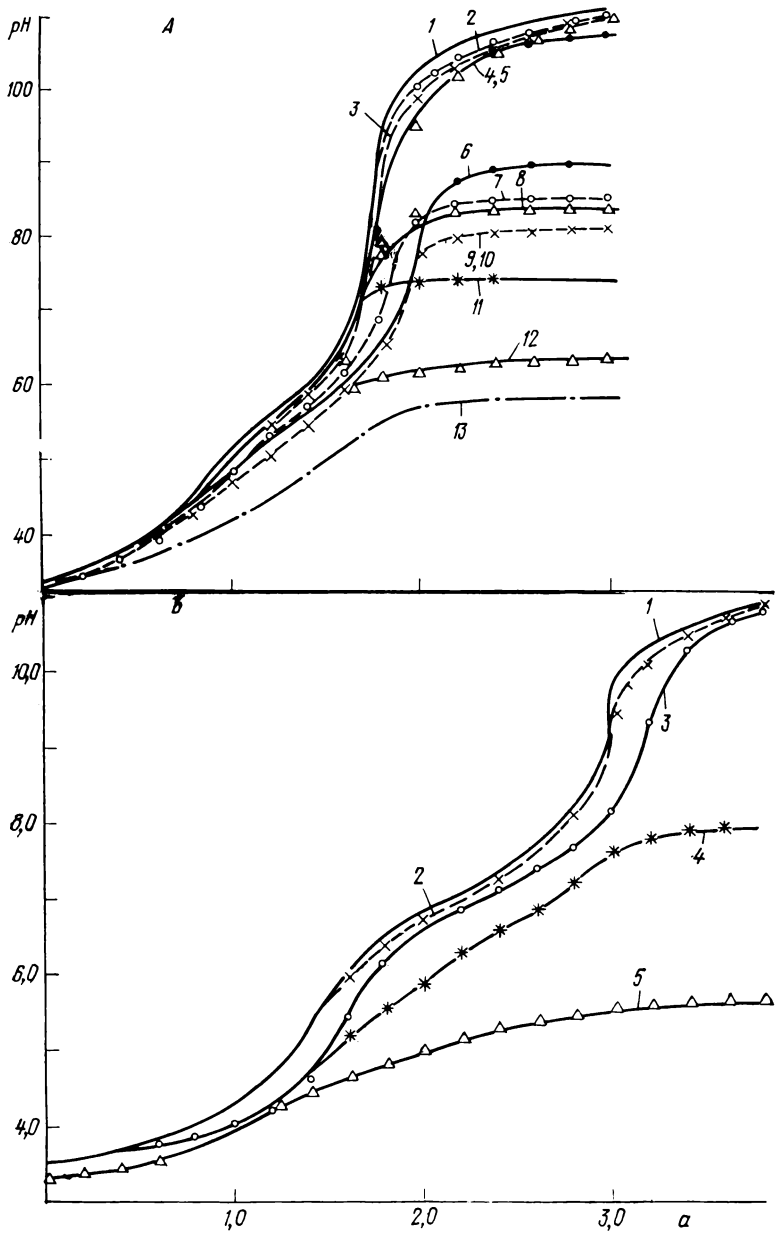
парофазным каталитическим окислением 2,6-лутидина при 400°С до 2,6-диальдегидпиридина [3,4] с последующим переведением его в диоксим, который может быть восстановлен до диамина [5]. Наши неудачные попытки получить диальдегид (ничтожные выходы) мы рассматриваем как результат неудавшегося повторения патентной прописи получения ванадиево-молибденового катализатора [4]. Мы не смогли восстановить диамид и динитрил 2,6-лутидиновой кислоты ни алюмогидридом лития, ни водородом над платиной (катализатор Адамса).

Также не прошла реакция, применяемая для получения первичных аминов алифатического и ароматического ряда через металлоорганические соединения (алкилмагнийгалогениды или литиевые соединения) и *о*-метилгидроксиламин или *о*-бензилгидроксиламин [6 — 8]. В продуктах взаимодействия 2,6-лутидина с фенилллитием (1:2) как с *о*-метилгидроксиламином, так и с *о*-бензилгидроксиламином диамин не получился. По-видимому, в этом случае, как и в ряде аналогичных реакций [9], образование литиевого производного лутидина идет только по положению 2, но не 2,6.

Особенности синтеза симметричных производных в положении 2,6 состоят в том, что одинаковая подвижность водородных атомов метильных групп в $\alpha,\alpha^1$-положении приводит к однозамещенным производным и замещение водорода другой метильной группы иногда сильно затруднено или невозможно.

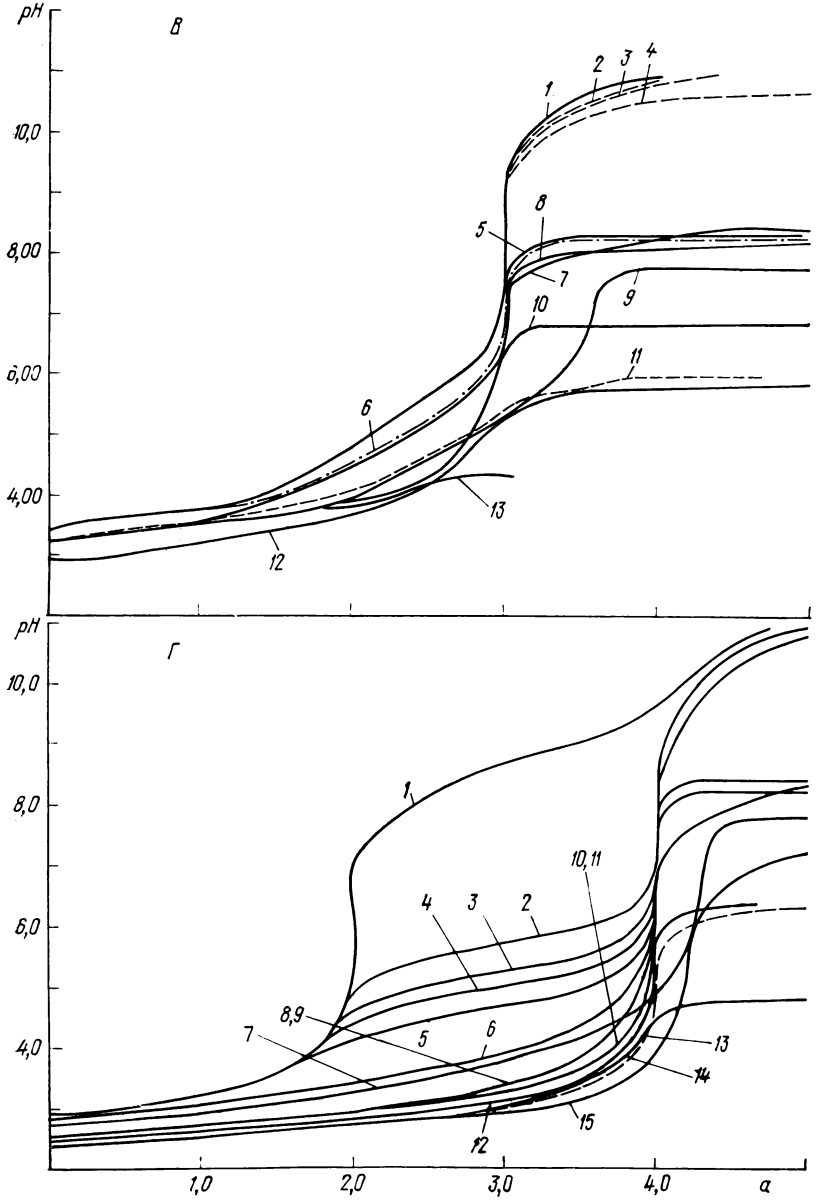
Дигалоидное производное лутидина стало более или менее доступным в результате применения на отдельных стадиях синтеза N-окисей производных пиридина [10 — 18]. В противном случае выход 2,6-ди(бромметил)пиридина не превышает 1 — 2% [16]. Диполярная связь азот — кислород в N-окиси приводит к перераспределению электронной плотности в кольце, в результате чего промежуточные N-окиси позволяют получить производные пиридина, которые не удавалось получить другими путями. Из двух направлений, указанных на схеме, получение конечного продукта (9) через диацетат (10) и диоксипроизводное (11) более предпочтительно, чем через соединения (5 — 8), которые являются лакриматорами и обладают дермативным действием. Кроме того, в этом направлении нам удалось существенно сократить процесс, минуя еще одну трудоемкую стадию получения продукта (9).

Получение всех четырех соединений было сопряжено с большими трудностями. Известно, что характерной особенностью получения комплексонов является сложность их выделения и очистки. Это свойство в большой степени было присуще и вновь синтезированным соединениями. Вещества очень ограниченно растворимы в воде и нерастворимы в органических растворителях. Небольшие выходы соединений I — III (12 — 38%) можно объяснить какой-то их особенностью, так как расход щелочи при реакциях с галоидуксусной кислотой обычно был близок к количественному. Малый выход комплексонов частично объясняется их склонностью к декарбоксилированию (вспенивание раствора натриевой соли




Кривые потенциометрического титрования комплексонов I—IV (*А* — *Г*) в присутствии различных ионов металлов; $t=20°$, $\mu=0,1$, концентрация комплексона $1\cdot10^{-3}$ М.

*а* — отношение числа молей основания к числу молей комплексона.
*А*: *2* — $Sr^{2+}$, *3* — $Ca^{2+}$, *4* — $Ba^{2+}$, *5* — $Mg^{2+}$, *6* — $Mn^{2+}$, *7* — $Co^{2+}$, *8* — $Cd^{2+}$, *9* — $Ni^{2+}$, *10* — $Hg^{2+}$, *11* — $Zn^{2+}$, *12* — $Pb^{2+}$, *13* — $Cu^{2+}$.
*Б*: *2* — $Sr^{2+}$, *3* — $Ca^{2+}$, *4* — $Ni^{2+}$, *5* — $Cu^{2+}$.




*В*: *2* — $Sr^{2+}$, *3* — $Ca^{2+}$, *4* — $Mg^{2+}$, *5* — $Mn^{2+}$, *6* — $Cd^{2+}$, *7* — $Co^{2+}$, *8* — $Ni^{2+}$, *9* — $Hg^{2+}$, *10* — $Ce^{3+}$, *11* — $Pb^{2+}$, *12* — $Cu^{2+}$, *13* — $Zn^{2+}$.

*Г*: *2* — $Ba^{2+}$, *3* — $Sr^{2+}$, *4* — $Mg^{2+}$, *5* — $Ca^{2+}$, *6* — $Hg^{2+}$, *7* — $Ni^{2+}$, *8* — $Mn^{2+}$, *9* — $Co^{2+}$, *10* — $Cd^{2+}$, *11* — $Zn^{2+}$, *12* — $Ce^{3+}$, *13* — $Cu^{2+}$, *14* — $Pb^{2+}$, *15* — $Y^{3+}$.

*1* (*А*, *Б*, *Г*) — комплексон в отсутствие ионов металлов; *1* (*В*) — комплексон в присутствие $Ba^{2+}$.

при подкислении), что не позволяло чистить эти вещества и с помощью ионообменных смол. Кроме того, из-за ограниченной растворимости в воде нельзя было очистить их и через какие-либо нерастворимые соли.

Исключение представляет комплексон IV, который получали с выходом не менее 50%, хотя расход щелочи в реакции конденсации 2,6-ди(бромметил)пиридина с иминодиуксусной кислотой был близок к теоретическому. И здесь, по-видимому, снижение выхода происходит ввиду склонности комплексона к декарбоксилированию. Очистить это вещество удается через свинцовую соль, плохо растворимую в воде, с последующим вытеснением кислой формы комплексона сероводородом.

Другой особенностью данных соединений является ухудшение их элементного состава при многократной кристаллизации. По-видимому, таким образом проявляется влияние температуры, при которой производится очистка веществ (перекристаллизация из воды). Кроме того, при каждой кристаллизации происходят значительные потери вещества: примерно 50% от взятого количества. Поэтому для комплексонов II и III предпочтительным оказалось 5 — 6-кратное переосаждение. Для этого комплексон переводили в натриевую соль и высаживали соляной кислотой. Контролировали чистоту веществ и их пригодность для изучения комплексообразующих свойств потенциометрическим титрованием. Вещество считалось пригодным для проведения титрований с металлами и для биологических испытаний, если подъем кривой титрования соответствовал целому числу эквивалентов щелочи.

В отличие от комплексона IV, комплексоны I — III флуоресцируют в растворе, начиная с pH$\cong$5: комплексон I — синим, II — сине-зеленым, III — сине-фиолетовым цветом. Флуоресценция сохраняется и в щелочной среде. Отсутствие флуоресценции у комплексона IV, по-видимому, объясняется наличием метиленовых групп между пиридиновым циклом и азотом иминодиацетатных групп.

## Экспериментальная часть

Для характеристики комплексообразующих свойств синтезированных комплексонов проводили потенциометрическое титрование с ионами двух и трехвалентных металлов: $Ca^{2+}$, $Sr^{2+}$, $Ba^{2+}$, $Mg^{2+}$, $Cu^{2+}$, $Ni^{2+}$, $Co^{2+}$, $Pb^{2+}$, $Hg^{2+}$, $Mn^{2+}$, $Cd^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Y^{3+}$, $Ce^{3+}$ (см. рисунок). Кривые потенциометрического титрования без металлов использовали для расчета констант кислотной диссоциации, а кривые с металлами — для расчета констант устойчивости. Последние были рассчитаны для комплексона IV. Для остальных комплексонов мы ограничились качественной характеристикой комплексообразующих свойств, поскольку известна корреляция между комплексообразующими свойствами и поведением металла в организме животного.

## Константы диссоциации

Как видно из рисунка, кривые титрования соединений без металлов одинаковы для комплексонов II и III. В буферной области при изменении величины $a$ от 0 до 3 происходит одновременное отщепление трех протонов и при $a=3\div4$ — одного протона. Для комплексона IV имеются две буферных области одновременного отщепления двух протонов, т. е. два протона отщепляются в области, где $a$ изменяется от 0 до 2, и два протона — при изменении от 2 до 4. У комплексона I также одновременно отщепляются два протона. Следовательно, расчеты констант диссоциации $k_1$, $k_2$, $k_3$ комплексонов II и III должны производиться решением нескольких систем из трех уравнений с тремя неизвестными, а константа $k_4$ — решением одного уравнения:

$$k_2k_3\left[(3-a)\frac{C_s}{[H]^2}-\frac{1}{[H]}+k_2\left[(2-a)\frac{C_s}{[H]}-1\right]-\right.$$
$$\left.-\frac{1}{k_1}[[H](a)C_s+[H]]+[(1-a)C_s-[H]]=0.\right. \quad (1)$$

Для комплексона IV расчет констант $k_1$ и $k_2$ производили по десяти точкам в пределах изменения величины $a$ от 0,3 до 1,7 и $k_3$, $k_4$ — от 2,4 до 3,8. Расчетные уравнения констант диссоциации имели вид

$$\alpha[H]^2\frac{1}{k_1k_2}+(\alpha-1)[H]\frac{1}{k_2}=2-\alpha, \quad (2)$$

$$(\alpha-2)[H]^2\frac{1}{k_3k_4}+(\alpha-3)[H]\frac{1}{k_4}=4-\alpha, \quad (3)$$

$$\alpha=a-\frac{[H]-[OH]}{C_s},$$

где $C_s$ — начальная концентрация комплексона, *г-моль/л*;
$a$ — отношение числа молей основания (титранта) к числу молей комплексона.

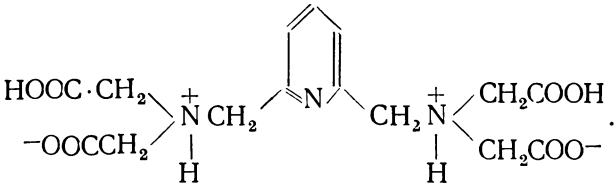
Уравнения получены из выражений констант равновесий ступенчатого процесса диссоциации 4-основной кислоты и использования уравнений баланса концентраций и электронейтральности. Расчет констант кислотной диссоциации выполняли по методу Шварценбаха (алгебраический вариант) решением системы уравнений методом наименьших квадратов [17].

Отрицательные логарифмы констант диссоциации, определенных таким путем при $\mu=0{,}1$ и $t=20°$, вновь синтезированных комплексонов имеют следующие значения:

| Комплексоны | $pk_1$ | $pk_2$ | $pk_3$ | $pk_4$ |
|---|---|---|---|---|
| I | 4,40 | 6,27 | — | — |
| III | 2,908 | 4,008 | 5,684 | 11,506 |
| IV | 1,456 | 3,118 | 8,342 | 9,027 |

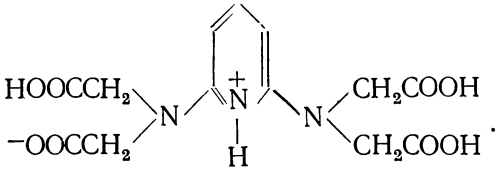
На основании полученных констант диссоциации и кривых потенциометрического титрования можно предположить наличие

бетаиновой структуры у комплексонов. Тогда комплексон IV, представленный в форме бетаина, будет иметь вид



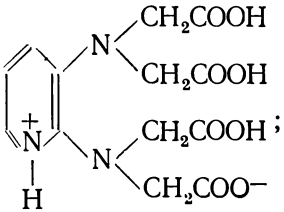
Данной структурой объясняется существование двух буферных областей титрования. При $a=2\div4$ происходит диссоциация протонов азота иминодиацетатных групп. Азот пиридинового цикла в бетаиновой структуре не участвует, по-видимому, из-за различной основности азота в алифатическом остатке и третичного азота в ароматическом пиридиновом цикле.

В соединениях II и III азот пиридинового цикла, вероятно, принимает участие в бетаиновой структуре. И, надо полагать, что одновременное отщепление трех протонов соответствует диссоциации протонов карбоксильных групп. В противном случае, в соединении II, в котором из трех азотов равноценными являются азоты именодиацетатных групп, существовало бы две буферных области с одновременным отщеплением в каждой по два протона. Следовательно, бетаиновая структура комплексона II должна иметь вид

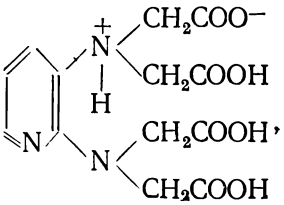


И, наконец, по-видимому, возможны два варианта бетаиновой структуры соединения III:

а)



б)



поскольку азоты в положении 2,3- будут неравноценны, так как непосредственное оттягивание электродов атомом азота пиридинового цикла приводит к тому, что положение 2 обедняется электронами, а положение 3 обогащается ими.

## Константы устойчивости

Расчетные уравнения констант устойчивости щелочноземельных металлов для монопротонированного комплексона (МНА) и нормального моноядерного комплекса (МА) имели вид

$$k_3[H][M](\beta-1)K_{MHA}+k_3k_4[M](\beta-2)K_{MA}+ \\ +\{\beta[H]^2+k_3[H](\beta-1)+k_3k_4(\beta-2)\}=0, \quad (4)$$

$$[M]=C_M-[MHA]-[MA], \quad (5)$$

$$\beta=(a-2)+\frac{[H]-[OH]}{C_s}, \quad (6)$$

где $k_3$, $k_4$ — константы диссоциации;

$K_{MHA}$, $K_{MA}$ — константы устойчивости монопротонированного и нормального моноядерного комплексов;

$C_s$ и $C_M$ — концентрации комплексона и металла ($1\cdot10^{-3}$ М).

Расчетные уравнения для металлов с $K_{уст}>10^{-10}$ получили в следующей форме:

$$\left.\begin{aligned}[H_3B^{3+}]&=\frac{c_s(7-a)-[H]}{\delta},\\ [MA^{2-}]&=\gamma[H_3B^{3+}],\\ [MB^{2+}]=[MgA^{2-}]&=C_s-[MA^{2-}].\end{aligned}\right\} \quad (7)$$

Здесь

$$[Mg^{2+}]=C'_{M'}-[MgA^{2-}],$$

$$\gamma=1+\frac{k'_1}{[H]}+\frac{k'_1k'_2}{[H]^2}+\frac{k'_1\cdot k'_2\cdot k'_3}{[H]^3},$$

$$\delta=3+\frac{2k'_1}{[H]}+\frac{k'_1k'_2}{[H]^2},$$

$C_M=C_s=[H_3B^{3+}]=10^{-3}$М; $C'_{M'}=10^{-2}$М, $H_3B$ — трэн.

При этом использовали метод конкурирующих реакций, так как прямой расчет констант устойчивости алгебраическим методом для металлов, буферная область которых лежит в пределах pH<3, нельзя провести из кривых потенциометрического титрования. В качестве вспомогательного лиганда использовали солянокислый трэн, β, β′, β″-триаминотриэтиламин $H_3B\cdot3HCl$, а в качестве вспомогательного металла — $Mg^+$. При этом протекала реакция

$$MA^{2-}+(H_3B)^{3+}+Mg^{2+}\rightarrow(MB)^{2+}+MgA^{2-}+3H^+.$$

Соответствующая ей константа равновесия $K_p$ может быть выражена уравнением

$$K_p=\frac{[MB^{2+}][MgA^{2-}][H]^3}{[MA^{2-}][H_3B^{3+}][Mg^{2+}]}. \quad (8)$$

По величине $K_р$ константу устойчивости исследуемого металла находили по соотношению

$$K_{МА} = \frac{K_{МВ} K_{MgA} k'_1 k'_2 k'_2}{K_р}. \quad (9)$$

Составляющие в выражениях (8) и (9) определялись по (5) — (7) и уравнению

$$a_1 + a_2 k'_1 k'_2 + a_3 k'_1 k'_2 k'_3 + g = 0, \quad (10)$$

где

$$g = a + \frac{[H] - [OH]}{C_s}; \quad a_1 = \frac{g-1}{[H]}; \quad a_2 = \frac{g-2}{[H]^2}; \quad (11)$$

$$a_3 = \frac{g-3}{[H]^3};$$

$a$ — количество моделей щелочи на моль $[H_3B]\cdot Cl_3$; $k'_1$, $k'_2$, $k'_3$ — константы кислотной диссоциации $[H_3B]\cdot Cl_3$, которые были найдены по данным титрования трэна как средние значения из решения 14 систем, состоящих из трех уравнений (10). Для каждого металла использовались данные для пяти точек титрования. Полученные значения констант очень близки к литературным данным.

Для расчетов использовали значения $a = 4{,}3 \div 4{,}7$ и соответствующие им значения [H]. Таким путем были рассчитаны $K_{уст}$ для $Cu^{2+}$, $Ni^{2+}$, $Cd^{2+}$, $Co^{2+}$, $Zn^{2+}$, а по уравнениям (2) — (4) — для $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, $Ba^{2+}$, $Sr^{2+}$ по двенадцати точкам титрования. Результаты расчета приведены в табл. 1. Для $Ce^{3+}$ и $Mn^{2+}$ константы устойчивости не могли быть рассчитаны, так как в условиях эксперимента выпадал осадок. Для $Hg^{2+}$, $Pb^{2+}$, $Y^{3+}$ мы не нашли величин $K_{уст}$ комплексов с трэном. О комплексообразовании этих металлов можно судить только качественно по кривым потенциометрического титрования (см. рисунок, *Г*). Так константа устойчивости $Hg^{2+}$ будет близка к константе устойчивости $Ni^{2+}$. Практически одинаково комплексуют $Pb^{2+}$ и $Cu^{2+}$. Наиболее низкая кривая — для $Y^{3+}$, т. е. его $K_{уст}$ с комплексоном IV должна быть близка к величине 21, $Ce^{3+}$ очень близок с $Cu^{2+}$, а $Mn^{2+}$ с $Co^{2+}$.

Таким образом, комплексон IV по величинам констант устойчивости уступает ДТПА, но очень близок или превосходит ЭДТА.

По последовательности $K_{уст}$ щелочноземельных металлов ряд Ba<Sr<Mg<Ca одинаков для ЭДТА и соединения IV. Для других металлов характерны следующие ряды:

| Комплексоны | |
|---|---|
| IV | Co<Cd<Ni<Zn<Cu |
| ЭДТА | Co<Zn<Cd<Cu<Ni |
| ДТПА | Zn<Cd<Co<Ni<Cu |

Они указывают на то, что нет полной аналогии между сравниваемыми комплексонами, а имеются лишь сходства с ДТПА и ЭДТА.

Таблица 1

**Константы устойчивости комплексов 2,6-диаминометилпиридинтетрауксусной кислоты; $t=20°$ С, $\mu=0,1$**

| Отношение лиганда к металлу | $\lg K_{уст}$ | $Ba^{2+}$ | $Sr^{2+}$ | $Mg^{2+}$ | $Ca^{2+}$ | $Co^{2+}$ | $Cd^{2+}$ | $Ni^{2+}$ | $Zn^{2+}$ | $Cu^{2+}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 : 1 | МНА | 4,92 | 5,09 | 5,21 | 5,58 | — | — | — | — | — |
| | МА | 7,21 | 8,60 | 8,87 | 9,62 | 15,66 | 15,93 | 16,22 | 17,78 | 20,97 |
| 1 : 10 | МНА | 2,98 | 3,50 | 3,71 | 3,58 | — | — | — | — | — |
| | МА | 7,87 | 8,80 | 9,29 | 9,99 | — | — | — | — | — |

Примечание. Логарифм $K_p$ для $Co^{2+}$, $Cd^{2+}$, $Ni^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Cu^{2+}$ равен соответственно 22,11; 21,88; 21,68; 22,38; 21,43.

Таблица 2

**Распределение иттрия-91 в организме крыс при внутривенном введении комплексона IV через 2 *мин* после инкорпорации излучателя, % от баланса (92,81±2,11)**

| Ткани и выделения | Контроль (7)* | Комплексон IV (3) | ЭДТА (3) из [18] |
|---|---|---|---|
| Печень | 7,19±0,45 | 1,66±0,61 | 1,71±0,19 |
| Почки | 4,36±0,37 | 1,25±0,56 | 1,02±0,02 |
| Селезенка | 0,23±0,03 | 0,06±0,01 | -- |
| Скелет | 49,81±3,80 | 5,56±0,86 | 15,00±0,70 |
| Мягкие ткани тушки | 23,99±4,82 | 3,26±0,61 | 3,30±0,35 |
| Кал | 1,99±0,51 | 4,84±1,24 | 3,00±0,36 |
| Моча | 12,43±0,98 | 83,37±1,06 | 75,97±2,05 |

* В скобках указано количество крыс в группе.

Таблица 3

**Влияние комплексона IV, введенного на 3-и и 8-е сутки, на выделение иттрия-91 с мочой (*А*) и калом (*Б*) у крыс, % от баланса (96,93±0,12)**

| Сутки | Контроль* | | ЭДТА* | | Комплексон IV* | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *А* | *Б* | *А* | *Б* | *А* | *Б* |
| 1 | 13,12±1,08 | 1,84±0,67 | 12,07±1,51 | 1,11±0,08 | 12,10±0,47 | 1,37±0,14 |
| 2 | 1,37±0,02 | 1,22±0,19 | 1,31±0,14 | 0,88±0,21 | 1,39±0,22 | 1,06±0,18 |
| 3** | 0,58±0,04 | 1,78±0,68 | 5,48±0,62 | 0,54±0,08 | 5,63±0,06 | 0,84±0,19 |
| 4 | 0,57±0,04 | 0,91±0,14 | 1,34±0,21 | 0,50±0,10 | 1,82±0,27 | 0,62±0,20 |
| 5 | 0,33±0,02 | 0,99±0,32 | 0,72±0,10 | 0,27±0,08 | 0,83±0,17 | 0,45±0,22 |
| 6 | 0,25±0,02 | 0,25±0,05 | 0,45±0,04 | 0,59±0,29 | 0,55±0,25 | 0,22±0,03 |
| 7 | 0,25±0,08 | 0,37±0,07 | 0,36±0,03 | 0,13±0,02 | 0,34±0,16 | 0,22±0,08 |
| 8** | 0,29±0,02 | 0,35±0,07 | 2,80±0,14 | 0,34±0,16 | 3,19±0,07 | 0,57±0,41 |
| 9 | 0,25±0,04 | 0,62±0,26 | 0,65±0,11 | 0,16±0,02 | 0,89±0,14 | 0,18±0,06 |
| 10 | 0,14±0,02 | 0,43±0,20 | 0,24±0,02 | 0,20±0,02 | 0,54±0,11 | 0,14±0,07 |

* В группах по 3 крысы.
** Введение комплексонов.

**Биологические испытания**

Определение эффективности комплексонов в выведении из организма радиоактивных иттрия, церия и стронция проводили на крысах (самках и самцах) 6—7-месячного возраста, линии «Вистар». В отпрепарированную хвостовую вену инъецировали иттрий-91, церий-144, стронций-85 (3—7 *мккюри* на крысу) в объеме 0,4 *мл*, а через 1—2 *мин* также внутривенно вводили препараты в дозе 20 *мкгмолей* (Na-форма, pH≃7,4). Крыс содержали в обменных клетках 24 *ч*, после чего их умерщвляли под эфирным наркозом.

На 3-и и 8-е сутки после инкорпорации иттрия-91 препарат IV инъецировали крысам внутрибрюшинно по 50 *мкгмолей* в виде Na-формы (pH≃7,4). Для сравнения испытуемого препарата по эффективности с ЭДТА параллельной группе крыс в те же сроки вводили эквимолярную дозу натриевой формы комплексона. Животные находились в обменных клетках в течение 10 дней, мочу и кал собирали раздельно за каждые сутки. Клетки ежедневно обмывали 0,1%-ным раствором ЭДТА для удаления активности со стенок. По истечении 10 суток крыс забивали под эфирным наркозом. Печень, почки, селезенку и кал высушивали при 100° С до постоянного веса, а бедренную кость и остаток тушки озоляли при 650° С в муфельных печах. Подготовленные таким образом ткани и кал растирали в порошок, из которого готовили пробы на стандартных алюминиевых тарелочках для определения содержания радиоактивных изотопов в них. Мочу вместе со смывами с клеток выпаривали до объема в 20—50 *мл*, из него по две пробы объемом в 1 *мл* наносили на стандартные тарелочки и высушивали под инфракрасной лампой до постоянного веса. Для β-излучателей (иттрий-91) активность проб определяли торцевым счетчиком, для γ-излучателей (церий-144 и стронций-85) — сцинтилляционным датчиком NaY (Tl) 60×32 *мм* на установке «Тесла». Сделав поправки на самопоглощение β-излучения иттрия-91 в толщине слоя пробы, результаты выражали в процентах от введенной дозы излучателя и в процентах от баланса от введенной крысе радиоактивности.

В результате испытаний установлено, что комплексоны I — III не оказывают никакого влияния на распределение и экскрецию иттрия-91, церия-144 и стронция-85. Содержание излучателей в моче крыс этих групп практически не отличалось от контрольных показателей. Лишь соединение IV заметно повысило экскрецию иттрия-91 и церия-144 через почки, но на распределение стронция-85 и этот комплексон не оказал никакого воздействия.

Выделение церия-144 с мочой после инъекции соединения IV увеличивалось с 1,64% до 42,45% и с калом — с 0,52% до 1,94%. По эффективности выведения церия-144 этот комплексон несколько выше ЭДТА, но в два раза слабее ДТПА, которые при раннем применении выводят через почки 31 и 81,02%, соответст-

Таблица 4

**Распределение иттрия-91 в организме крыс после инъекций комплексона на 3-и и 8-е сутки, % от баланса (96,93±0,12)**

| Ткани | Контроль (3)* | ЭДТА (5) | Комплексон IV (3) |
|---|---|---|---|
| Печень | 3,92±1,24 | 1,69±0,18 | 1,04±0,11 |
| Почки | 1,57±0,05 | 1,69±0,10 | 1,67±0,11 |
| Селезенка | 0,34±0,09 | 0,13±0,03 | 0,20±0,07 |
| Скелет | 54,85±2,72 | 49,41±1,48 | 50,04±1,76 |
| Мягкии ткани тушки | 13,41±0,77 | 16,67±1,35 | 14,09±1,80 |

* В скобках указано количество крыс в группе.

венно [18]. Вследствие этого опыта по изучению влияния комплексона на экскрецию церия-144 в поздние сроки после инкорпорации излучателя не проводили.

Данные по ускорению выведения иттрия-91 из организма при раннем применении комплекса IV показывают, что этот препарат несколько превышает по эффективности ЭДТА (табл. 2), но уступает ДТПА [18]. Содержание излучателя в моче крыс, собранной за 24 *ч* после применения комплексона IV, составляло 83,4%, что на 7,4% больше, чем после применения эквимолярной дозы ЭДТА ($p=0{,}037$), а уровень депонирования в скелете снизился почти в три раза ($p=0{,}0003$).

Отложение иттрия-91 в печени, почках, селезенке и мягких тканях тушки заметно снижалось по сравнению с контролем ($p=0{,}0002$—$0{,}017$), но статистически достоверных различий уровней депонирования излучателя в этих тканях по отношению к ЭДТА не установлено. Выделение радиоиттрия с калом, как и после применения ЭДТА, увеличивалось ($p=0{,}03$).

По данным [18], комплексоны, оказавшие выраженное влияние на экскрецию излучателя при раннем применении, дают также заметный эффект и при инъекции их в более поздние сроки. В наших опытах особого внимания заслуживал факт значительного снижения отложения иттрия-91 в костной ткани после применения комплексона IV. Исходя из этого соединение IV было испытано на 3-и и 8-е сутки после инкорпорации иттрия-91. Результаты опытов показывают, что, как и в случае раннего применения 2,6-диаминометилпиридинтетрауксусной кислоты, наблюдается заметный эффект (табл. 3). Выделение иттрия-91 с мочой у крыс после инъекции комплексона IV составило на 3-и, 8-е сутки 5,63 и 3,19%, соответственно, что в 10 раз превышало уровень экскреции излучателя у контрольных животных. Повышенное выделение иттрия-91 с мочой наблюдалось и в последующие за инъекцией комплексона дни. Таким образом, комплексон

IV оказал столь же выраженное воздействие, как и натриевая форма ЭДТА (см. табл. 3). При позднем применении комплексон IV выводит иттрий-91, в основном, из печени и скелета и мало изменяет уровень накопления излучателя в других тканях (табл. 4).

Данные по определению токсичности[1] показывают несомненное преимущество комплексона IV перед ЭДТА: при внутрибрюшинном введении мышам Na-формы его толерантная доза оказалась более высокой, чем $СД_{50}$ для этилендиаминтетраацетата:

| | Доза, *мг/кг* | Погибло, % |
|---|---|---|
| Соединение IV | 369,0 | 100,0 |
| | 350,5 | 0,0 |
| Na-ЭДТА | 300,0 | 50,0 |
| | 150,0 | 0,0 |

## Заключение

Изучение комплексообразующих свойств новых соединений, содержащих пиридиновый цикл, показало несомненное преимущество комплексона IV (2,6-диаминометилпиридинтетрауксусная кислота) перед другими изученными комплексонами, что объясняется различной основностью азота, несущего остатки уксусной кислоты и принимающего непосредственное участие в связывании металла в комплекс. В комплексоне IV атом азота является алифатическим, а значит, высокоосновным; в комплексонах I, II, III он связан непосредственно с ароматическим гетерокольцом, и в результате сопряжения *p*-пары электронов с π-системой кольца, основность атомов азота резко понижается, что приводит к снижению его донорных свойств (например, бензиламин pK=4,63; анилин pK=9,42 [21]).

Особенно сильно разница проявляется в комплексообразовании щелочноземельных металлов соединениями I, II и III. Они, в отличие от комплексона IV, связывают щелочноземельные металлы весьма слабо. При комплексообразовании с другими металлами данные соединения не показали какой-либо избирательности от изменения строения. Отсутствие эффективности комплексонов I — III в отношении Y, Ce и Sr согласуется с данным потенциометрического титрования.

Однако мы полагали, что комплексон III благодаря структурной близости с 1,2-ЦГТА, а также примерно одинаково высокому значению pK констант диссоциации на 4-й ступени (11,59 — комплексон III и 11,76 — 1,2-ЦГТА) окажется более эффективным. По-видимому, в данном случае проявляется влияние стерических факторов, затрудняющих комплексообразование, поскольку расстояние между углеродными атомами, несущими иминодиацетатную

[1] Токсичность определена Э. А. Тарахтий.

группировку, будет неодинаково. Длина связи C — C в алифатических соединениях равна 1,54 Å, а в ароматическом кольце — 1,40 Å.

По отношению к Sr неэффективным оказался также и комплексон IV, что является вполне закономерным, поскольку $\lg K_{уст}$ для $Ca^{2+}$ (9,62) у данного комплексона больше, чем для $Sr^{2+}$ (8,60). Если взять разницу констант $K_{CaA} - K_{SrA}$, то для ДТПА она равна 1,21, для ЭДТА — 1,96, для IV — 1,02, т. е. полученный комплексон более близок ДТПА. Однако, поскольку по выведению стронция как ЭДТА, так и ДТПА не являются эффективными [20], аналогичный им по строению комплексон IV не составляет исключения.

Эффективность комплексона IV по отношению к Y и Ce также согласуется с данными потенциометрического титрования, хотя $K_{уст}$ с этими металлами рассчитать не удалось (по кривым титрования для Y и Ce константа устойчивости должна быть близкой 21). Биологические испытания показали, что эффективность комплексона IV либо аналогична ЭДТА, либо по некоторым показателям превосходит ее, уступая, однако, ДТПА. Это находится в согласии с константами вытеснения кальция [18], по которым данный комплексон можно расположить между ЭДТА и ДТПА, если принять $\lg K_{уст}$ комплексона IV с Y и Ce, равным 21:

| | ЭДТА | IV | ДТПА |
|---|---|---|---|
| Y . . . . . | 7,1 | 10,0 | 12,16 |
| Ce . . . . . | 5,1 | 10,0 | 9,61 |

Но если учесть, что в выведении церия-144 комплексон IV менее эффективен, чем ДТПА, то следует полагать, что $K_{уст}$ его с $Ce^{3+}$ будет меньше принятой нами величины.

По эффективности в отношении иттрия-91 комплексон IV превышает ЭДТА как при раннем, так и позднем применении, что особенно заметно по снижению уровня депонирования излучателя в скелете.

Исходя из данных по ускорению выведения радиоизотопов из организма, а также заметно более низкой токсичности соединения по сравнению с ЭДТА, можно считать, что комплексон VI заслуживает дальнейшего изучения.

## ЛИТЕРАТУРА


1. И. М. Белова, Н. И. Латош. Ж. общ. хим., 1974, 44, 1804.
2. R. Graf. J. Pr. Chem., 1936, **146**, 88.
3. W. Mathes, W. Sauermilch, T. Klein. Chem. Ber., 1953, 86, 584.
4. Гем. Пат. № 733298, 1943; C. A. **38**, 982, 1944.
5. F. Lions, K. L. Martin. J. Amer. Chem. Soc., 1957, **79**, 2733.
6. Н. И. Шевердина, К. А. Кочешков. Ж. общ. хим., 1930, 8, 1825.
7. Н. И. Шевердина, К. А. Кочешков. Изв. АН СССР, сер. хим., 1941, 75.
8. K. Brown, N. E. Jones. J. Chem. Soc. 1946, 781.
9. Pyridine and its derivatives, II. N.— Y. London, 1961, p. 430.

10. V. Boekelheide, W. J. Linn. J. Amer. Chem. Soc., 1954, **76**, 1286.
11. Ю. И. Чумаков. Методы получения химических реактивов и препаратов, 1963, 7, 59 (Всес. науч.-исслед. ин-т хим. реактивов).
12. Ю. И. Чумаков, З. Е. Столяров, Ю. П. Шаповалова. Там же, 1963, 7, 61.
13. Ю. И. Чумаков, З. Е. Столяров. Там же, 1963, 7, 61.
14. S. Kasuga, T. Taguchi. Chem. Pharm. Bull., 1965, 13, 233.
15. Ю. И. Чумаков, З. Е. Столяров. Методы получения химических реактивов и препаратов, 1963, 7, 65 (Всес. науч.-исслед. ин-т хим. реактивов).
16. R. A. Barhes, M. Fales. J. Amer. Chem. Soc., 1953, **75**, 3830.
17. G. Schwarzenbach. Helv. Chim. Acta, 1950, 33, 947.
18. И. П. Трегубенко, В. Г. Яшунский, Д. И. Семенов. Биохимия, 1961, **26**, 1.
19. Д. И. Семенов, И. П. Трегубенко. Теоретические вопросы минерального обмена. М., «Наука», 1966, стр. 64.
20. Ю. Ф. Коваль. Ускорение выведения из организма радиоактивных изотопов. М., Атомиздат, 1972.
21. Справочник химика. Л. — М., Госхимиздат, 1952, стр. 506.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*Д. И. Семенов, В. М. Балакин, Ю. И. Литвинец,*
*Е. И. Сухачева, Т. П. Архипова, Т. А. Смирнова*

# ВЫВЕДЕНИЕ ИЗ ОРГАНИЗМА РАДИОАКТИВНЫХ ИТТРИЯ-91, ЦЕРИЯ-144 И СТРОНЦИЯ-85 ПОЛИКОМПЛЕКСОНАМИ — ПРОИЗВОДНЫМИ ПОЛИЭТИЛЕНПОЛИАМИНА И ПОЛИЭТИЛЕНИМИНА

По изучению влияния комплексообразующих веществ на поведение радиоактивных и токсических металлов в организме имеется обширная литература. Особый интерес представляют компексоны полимерной природы, содержащие значительное количество активных группировок. Полиэтиленполиаминполиацетат (ПЭПАПА), синтезированный на основе полиэтиленполиамина [1], ускоряет выделение радиоактивных иттрия, церия и свинца из организма при раннем и позднем применении [2]. По воздействию на поведение иттрия-91 ПЭПАПА превосходил ЭДТА, но уступал ДТПА; на церий-144 и свинец-210 он оказал столь же сильное воздействие, как и ДТПА [2].

В настоящей работе описаны синтез и биологические испытания других поликомплексонов. Они получены на кафедре технологии красителей и лекарственных веществ Уральского политехнического института.

## Синтез и свойства поликомплексонов

В качестве исходных полиаминов (табл. 1) для синтеза поликомплексонов использовали полиэтиленимин (ПЭИ) и высокомолекулярную фракцию полиэтиленполиамина (ПЭПА), полученную после отгонки при остаточном давлении 7 *мм* рт. ст. низкокипящих аминов и примесей из промышленного продукта.

По известной реакции карбоксиалкилирования полиаминов монохлорацетатом [1, 3] были получены полиаминополиацетаты:

$$NH_2-[-C_2H_4NH-]_n-C_2H_4NH_2 \xrightarrow[NaOH]{ClCH_2COOH} \rightarrow$$

$$\rightarrow \begin{matrix} HOCCH_2C \\ HOCCH_2C \end{matrix}\!\!>N-[-C_2H_4\underset{\underset{CH_2COOH}{|}}{N}-]_n-C_2H_4N<\!\!\begin{matrix} CH_2COOH \\ CH_2COOH \end{matrix}; \qquad (I)$$

Таблица 1

**Краткая характеристика полиаминов**

| Полиамин | Брутто-формула | Мол. вес | $n$ | Содержание, % | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | азота (общее) | первичных амино-групп |
| ПЭПА | $NH_2—[—C_2H_4NH—]_n—$ $—C_2H_4NH_2$ | 430 | 9—11 | 31,4 | 11,0 |
| ПЭИ | $[C_2H_4NH—]_n—$ | 1500<br>60000 | 33—35<br>1300—1400 | 82,0<br>32,5 | 8,2<br>7,8 |

Таблица 2

**Состав поликомплексонов**

| Поликомплексон | Найдено, % | | | | Вычислено, % | | | | Мол. вес |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | C | H | N | P | C | H | N | P | |
| Полиэтиленполиамин-N-уксусная кислота (I) . . | 46,86 | 7,42 | 13,17 | — | 47,50 | 6,68 | 13,85 | — | 1000 |
| Полиэтиленполиамин-N-пропионовая кислота (II) . . . . . | 46,22 | 8,12 | 13,56 | — | 46,98 | 7,88 | 13,52 | — | 1100 |
| Полиэтиленполиамин-N-метилфосфоновая кислота (III) . . . . . | 24,60 | 7,00 | 8,40 | 16,20 | 24,00 | 5,20 | 8,10 | 17,80 | 1200 |
| олиэтиленполиамин-N- (α-карбокси)-β-аминопропионовая кислота (IV) . . . | 41,22 | 6,82 | 12,13 | — | 41,87 | 6,33б | 11,87 | — | 1200 |
| Полиэтиленимин-N-уксусная кислота (V) . . . . . | 46,90 | 7,20 | 12,16 | — | 47,50 | 6,68 | 13,85 | — | 3000 |
| Полиэтиленимин-N-метилфосфоновая кислота (VI) . . . . . | 24,80 | 6,90 | 8,30 | 17,00 | 24,00 | 5,20 | 8,10 | 17,80 | 3200 |
| Полиэтиленимин-N-уксусная кислота (VII) . . . | 46,92 | 7,03 | 13,27 | — | 47,50 | 6,68 | 13,85 | — | 70000 |

$$-[-C_2H_4NH-]_n- \xrightarrow[NaOH]{ClCH_2COOH} -[-C_2H_4\underset{\underset{CH_2COOH}{|}}{N}-]_n- \quad (V, VII)$$

Путем взаимодействия ПЭПА с метилакрилатом с последующим омылением эфирных групп соляной кислотой [4] синтезирована полиэтиленполиамин-N-пропионовая кислота:

$$NH_2-[-C_2H_4NH-]_n-C_2H_4NH_2+CH_2=CH-COOCH_3 \xrightarrow[2)\ HCl/H_2O]{1)\ ксилол}$$

$$\rightarrow \begin{matrix} HOOCH_2CH_2C \\ HOOCH_2CH_2C \end{matrix}\!\!>N-[-C_2H_4\underset{\underset{CH_2CH_2COOH}{|}}{N}-]_n-C_2H_4N<\!\!\begin{matrix} CH_2CH_2COOH \\ CH_2CH_2COOH \end{matrix} \quad (II)$$

Таблица 3

**Логарифмы констант устойчивости комплексов поликомплексонов с катионами металлов**

| Соединение | $lgK_{уст}$ | | | $lg\frac{K_{Sr}}{K_{Ca}}$ |
|---|---|---|---|---|
| | $Ca^{+2}$ | $Sr^{+2}$ | $Y^{+3}$ | |
| I | 9,0 | 8,2 | 16,2 | — |
| II | 2,0 | 2,0 | 11,6 | — |
| III | 6,0 | 5,4 | 15,7 | —0,6 |
| VII, V | 8,5 | 8,0 | 14,9 | —0,5 |
| ДЭЭТА* | 10,0 | 9,34 | 17,54 | —0,66 |

* Данные [3].

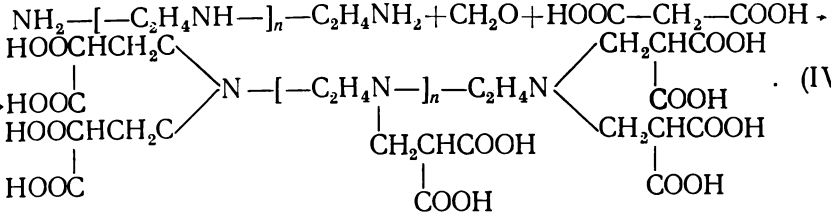
Таблица 4

**Влияние поликомплексонов на распределение иттрия-91 в организме крыс за сутки, % от баланса (98,93±2,88%)**

| Ткани и выделения | Контроль (7)* | Поликомплексоны (4) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | I | III | V | VI |
| Печень . . | 7,19±0,45 | 0,84±0,25 | 1,26±0,45 | 1,15±0,10 | 3,31±0,48 |
| Почки . . . | 4,36±0,37 | 0,72±0,13 | 0,74±0,14 | 0,84±0,07 | 0,53±0,04 |
| Селезенка . | 0,23±0,03 | 0,07±0,01 | 0,06±0,01 | 0,03±0,005 | 0,28±0,09 |
| Скелет . . | 49,81±3,80 | 5,87±0,48 | 11,15±1,08 | 7,97±0,90 | 19,71±1,06 |
| Мягкие ткани . . . | 23,99±4,82 | 3,34±0,23 | 5,79±0,03 | 4,34±2,23 | 5,99±4,93 |
| Моча . . . | 12,43±0,98 | 87,10±1,32 | 77,23±4,25 | 83,82±1,77 | 69,05±4,55 |
| Кал . . . . | 1,99±0,51 | 2,06±0,91 | 3,77±2,01 | 1,85±0,93 | 1,13±0,09 |

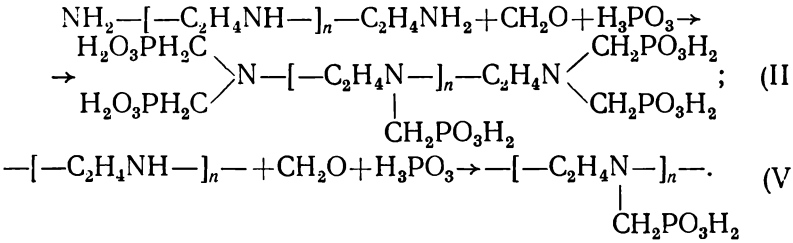
* В скобках указано количество крыс в группе.

Поликомплексон с группировками α-карбокси-β-аминопропионовой кислоты был синтезирован по реакции Манниха ПЭПА с формальдегидом и малоновой кислотой [4]:



(IV)

Взаимодействием полиаминов с формальдегидом и фосфористой кислотой [5] были получены также азотфосфорсодержащие поликомплексоны:



(III)

(VI)

Краткая характеристика синтезированных поликомплексонов приведена в табл. 2. С целью определения констант устойчивости комплексов катионов металлов с поликомплексонами было проведено потенциометрическое титрование 0,1 н. раствором NaOH в присутствии 0,1 М KCl при 20°. Расчет констант устойчивости комплексов сделали по методу Бьеррума — Грегора [6, 7] на ЭВМ «Проминь», логарифмы констант приведены в табл. 3. Относительно высокие значения констант устойчивости подтверждают целесообразность изучения поликомплексонов в биологическом эксперименте.

### Биологические испытания

Крысам (самкам и самцам 6—7-месячного возраста) линии Вистар внутривенно инъецировали в объеме 0,4 *мл* иттрий-91, церий-114 или стронций-85 в виде хлоридов от 3 до 7 *мккюри* на крысу, а через 1—2 *мин* также внутривенно вводили поликомплексоны в дозе 20 *мкгмолей* (натриевая форма pH = 7,4). Крыс помещали в обменные клетки, мочу и кал собирали раздельно; через 24 *ч* животных умерщвляли под эфирным наркозом. Кроме того, некоторые поликомплексоны испытывали при позднем применении. Препараты инъецировали внутрибрюшинно в дозе 50 *мкгмолей* на крысу в объеме 0,4 *мл* в виде натриевой соли (pH = 7,4) на третий день после инкорпорации излучателя. Крыс содержали в обменных клетках в течение 7 дней с целью уста-

новления эффекта «последействия» под влиянием комплексонов. Мочу и кал собирали раздельно за каждые сутки. Готовили образцы тканей и выделений, содержание в них излучателей определяли по стандартной методике [9].

**Иттрий-91.** Предварительные испытания показали, что производные ПЭПА (I—IV) и ПЭИ (V, VI) дают неодинаковый эффект при раннем применении, % от баланса (98,55±4,49%):

| | I | II | III | IV | V | VI | Контроль |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Тушка | 10,84 | 84,80 | 19,50 | 82,09 | 14,33 | 29,48 | 85,58 |
| Моча | 87,10 | 15,00 | 76,73 | 16,23 | 83,82 | 69,38 | 12,43 |
| Кал | 2,06 | 0,20 | 3,77 | 0,68 | 1,85 | 1,14 | 1,99 |

Резко повышали экскрецию иттрия-91 через почки поликомплексоны I, III, V и VI; соединения II и IV эффекта не оказали.

Дальнейшие исследования проводили с препаратами I, III, V и VI. Из них наиболее выраженное воздействие на экскрецию и распределение иттрия-91 за сутки оказал комплексон I с аминоацетатными комплексообразующими группировками (табл. 4). Выделение излучателя составило 87,1%, что выше эффекта ЭДТА [10] ($p=0{,}0045$). Соответственно резко снизилось отложение радиоизотопа во всех тканях, особенно в скелете (почти в 10 раз по сравнению с контролем). Препарат III с метилфосфоновыми группами также заметно повысил выделение иттрия-91 с мочой, но в меньшей степени, чем I ($p=0{,}0002$). Таким образом, производное ПЭПА с аминоацетатными группами оказалось более эффективным в ускорении выделения радиоактивного иттрия с мочой, чем с аминометилфосфоновыми. Аналогичные данные получены также при испытаниях производных ПЭИ: и в этом случае более эффективным оказалось соединение с аминоацетатными группировками (табл. 4, соединение V).

Представляло интерес сопоставить действие препаратов с аминоацетатными, аминометилфосфоновыми группировками при позднем применении. С этой целью были изучены соединения I и III (табл. 5). Поликомплексон I, инъецированный на третий день, повысил выделение иттрия-91 практически в той же степени, что и ЭДТА ($p=0{,}07$), в то время как препарат III не повлиял на экскрецию радиоактивного иттрия через почки. У поликомплексона I, как и у ЭДТА, наблюдается «последействие», продолжающееся до 6 дня включительно ($p=0{,}0003$—$0{,}013$). У соединения III такого эффекта не наблюдается. Распределение иттрия-91 по тканям в сравнении с контролем почти не изменилось, отмечено лишь снижение содержания излучателя в печени и селезенке, % от баланса (101,73±1,08%):

| | Контроль | ЭДТА | I | III |
|---|---|---|---|---|
| Печень | 5,32±1,24 | 2,39±0,18 | 1,63±0,111 | 2,16±0,19 |
| Почки | 1,57±0,05 | 1,96±0,10 | 2,09±0,25 | 1,81±0,18 |
| Селезенка | 0,34±0,09 | 0,13±0,03 | 0,16±0,01 | 0,14±0,01 |
| Скелет | 54,85±2,72 | 49,41±1,48 | 55,96±6,27 | 53,20±2,52 |
| Тушка | 14,09±9,77 | 20,35±1,35 | 15,70±3,28 | 20,64±1,61 |

Таблица 5

**Влияние позднего применения поликомплексонов на распределение и выведе**

| Сутки | Контроль (3)** | | ЭДТА (5) | |
|---|---|---|---|---|
| | *А* | *Б* | *А* | *Б* |
| 1 | 13,12±1,08 | 1,84±0,67 | 12,07±1,51 | 1,11±0,08 |
| 2 | 1,37±0,02 | 1,22±0,19 | 1,31±0,14 | 0,88±0,21 |
| 3* | 0,58±0,04 | 1,78±0,68 | 5,48±0,62 | 0,54±0,08 |
| 4 | 0,57±0,04 | 0,91±0,14 | 1,34±0,21 | 0,50±0,10 |
| 5 | 0,33±0,02 | 0,99±0,32 | 0,72±0,10 | 0,27±0,08 |
| 6 | 0,25±0,02 | 0,25±0,05 | 0,45±0,04 | 0,59±0,29 |
| 7 | 0,25±0,08 | 0,37±0,07 | 0,36±0,03 | 0,13±0,02 |

* Инъекция комплексона.
** В скобках указано количество крыс в группе.

**Церий-144.** Из двух испытанных соединений (I и III) более выраженное ускорение экскреции церия-144 вызвал препарат III. Выделение излучателя с мочой после инъекции комплексона через 2 *мин* вслед за введением радиозотопа повысилось с 1,66 до 66,73%, а с калом — с 0,8 до 3,11% ($p=0{,}01$). Заметно снизилось и депонирование в печени (табл. 6). Эффективность препарата III более чем в два раза превышала ЭДТА, но была несколько ниже ДТПА [11]. Соединение III близко по действию к ДЭЭТА [11], но в отличие от него в большей степени снижает содержание церия-144 в костной ткани (см. табл. 6).

Таблица 6

**Влияние поликомплексона III на распределение церия-144 в организме крыс, % от баланса (94,34±0,97%)**

| Ткани, выделения | Контроль (5)* | Поликомплексон III (4) | ДЭЭТА (3) |
|---|---|---|---|
| Печень | 63,39±2,50 | 10,31±2,48 | 9,38±1,43 |
| Скелет | 16,96±2,39 | 11,55±1,28 | 20,47±1,95 |
| Мягкие ткани | 17,19±0,33 | 8,30±1,15 | 4,08±0,97 |
| Моча | 1,66±0,23 | 66,73±2,00 | 62,29±2,29 |
| Кал | 0,80±0,12 | 3,11±0,73 | 3,68±1,16 |

* В скобках указано количество крыс в группе; данные для ДЭЭТА приведены из работы [11].

**Стронций-85.** С целью ускорения выведения радиоактивного стронция из организма испытано при раннем применении четыре поликомплексона (I, III, V, VII). Препарат I не оказывал воздействия, соединения III, V, VII (табл. 7) по сравнению с контролем повышали экскрецию стронция-85 в 2—3 раза и снижали отложения в скелете с 66,5 до 43—49%. Более эффективными

ние с мочой (А) и калом (Б) иттрия-91, % от баланса (101,73±1,08%)

| I (4) | | III (5) | |
|---|---|---|---|
| *А* | *Б* | *А* | *Б* |
| 12,84±1,66 | 1,33±0,29 | 13,22±1,26 | 1,13±0,27 |
| 1,46±0,34 | 0,69±0,08 | 1,95±0,47 | 0,86±0,23 |
| 3,81±0,23 | 0,74±0,04 | 1,89±0,16 | 0,68±0,10 |
| 0,93±0,03 | 0,59±0,10 | 0,54±0,05 | 0,34±0,03 |
| 0,62±0,03 | 0,31±0,05 | 0,45±0,03 | 0,25±0,04 |
| 0,37±0,03 | 0,20±0,07 | 0,18±0,02 | 0,20±0,03 |
| 0,32±0,03 | 0,25±0,03 | 0,22±0,03 | 0,24±0,10 |

Таблица 7

**Влияние поликомплексонов на распределение и экскрецию стронция-85, % от баланса (94,40±1,25%)**

| Ткани, выделения | Контроль | Поликомплексон | | |
|---|---|---|---|---|
| | | III | V | VII |
| Печень . . | 0,27±0,08 | 0,26±0,20 | 0,06±0,04 | 0,62±0,08 |
| Скелет . . . | 66,47±2,11 | 42,73±5,02 | 49,42±4,71 | 47,72±1,62 |
| Тушка . . . | 19,93±3,72 | 24,33±5,34 | 22,58±3,34 | 24,80±0,92 |
| Моча . . . | 8,73±1,11 | 25,81±1,11 | 23,36±2,65 | 20,91±1,20 |
| Кал . . . . | 4,60±1,50 | 6,87±0,90 | 4,58±0,87 | 5,95±0,39 |

оказались поликомплексоны III и V, повысившие выделение излучателя с мочой с 8,6 до 25,8 и 23,3% ($p=0{,}0002$; 0,002). По ускорению выведения стронция-85 с мочой и снижению накопления его в скелете поликомплексон III статистически достоверно не отличается от наиболее действенных до настоящего времени в этом отношении ДЭЭТА и ДЭСТА. Лишь комбинированное применение ДЭЭТА с сульфатом натрия и осмотическим диурезом [12] дает более высокий эффект при раннем применении, чем поликомплексон III ($p=0{,}016$); однако отложение радиоактивного стронция в скелете в обоих случаях статистически не различается ($p=0{,}54$). Полученные в результате биологических испытаний данные позволяют оценить поликомплексон III как препарат, стоящий в одном ряду по эффективности с известными комплексонами ДЭЭТА и ДЭСТА.

## Заключение

Изучение новых полимерных комплексонов, синтезированных на основе полиэтиленполиамина и полиэтиленимина, с целью

ускорения выведения из организма радиоактивных иттрия, церия и стронция выявило заметные различия в эффективности этих соединений в зависимости от характера комплексообразующих группировок. Так, при выведении иттрия-91 наиболее заметным действием обладают поликомплексоны с аминоацетатными и метилфосфоновыми группами. Поликомплексоны с аминопропионовыми группировками оказались неэффективными. В свою очередь, аминоацетатные производные ПЭПА и ПЭИ дали больший эффект, чем метилфосфоновые; эта зависимость проявлялась как при раннем так и при позднем применении испытываемых препаратов. Для производных ПЭПА прослеживается зависимость их эффективности в выведении иттрия-91 от величин констант устойчивости (см. табл. 3).

В отношения церия-144 поликомплексон III проявил наиболее выраженное действие, близкое к действию ДЭЭТА, что находится в хорошем соответствии с их константами вытеснения кальция.

Из испытанных поликомплексонов ускорение выведения радиоактивного стронция при раннем применении вызывали три соединения, причем самым эффективным из них было производное ПЭПА с аминометилфосфоновыми группами (III). Близким к нему действием обладал поликомплексон V. Значение логарифма констант вытеснения кальция $K_{Sr}/K_{Ca}$ для этих препаратов оказались очень близкими (—0,6; 0,5), хотя величины $K_{уст}$ различались более чем на два порядка (см. табл. 3). По своему эффекту поликомплексоны III и V не отличаются от ДЭЭТА, что находится в хорошем соответстии с их значениями констант вытеснения кальция. Эффективность комплексонов в отношении стронция-85 оставляет желать много лучшего. Важен поиск новых веществ, ускоряющих выведение этого опасного излучателя из организма.

## ЛИТЕРАТУРА


1. И. В. Подгорная. Синтез соединений с комплексообразующими группировками (тиомочевины, тиосемикарбазида и иминодиуксусной кислоты). Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1959.

2. И. П. Трегубенко, И. В. Подгорная, И. Я. Постовский, Д. И. Семенов. Радиобиология, 1962, **11**, 2, 200.

3. G. Manecke, H. Heller. Хим. и техн. полимеров, 1963, 7, 23.

4. Ю. И. Литвинец. Синтез и свойства новых поликомплексонов на основе полиаминов. Автореф. канд. дисс. Свердловск, 1974.

5. В. М. Балакин, Ю. И. Литвинец. Авт. свид. СССР, № 401692, 1973. Бюлл. изобр., 1973, 41, стр. 96.

6. H. Gregor. J. Phys. Chem., 1959, **63**, 206.

7. H. Gregor, D. H. Gold. J. Phys. Chem., 1962, **66**, 246.

8. Н. М. Дятлова, В. Я. Темкина, И. Д. Колпакова. Комплексоны. М., «Химия», 1970, стр. 390.

9. И. М. Белова, Н. И. Латош, Д. И. Семенов, Е. И. Сухачева, Т. А. Меньшикова, Т. А. Архипова. Статья в наст. сб., стр. 7.

10. Д. И. Семенов, И. П. Трегубенко. Биохимия, 1958, **23**, 1, 59.

11. И. П. Трегубенко, В. Г. Яшунский, Д. И. Семенов. Там же, 1961, **26**, 177.

12. Ю. Ф. Коваль. Ускорение выведения из организма радиоактивных изотопов. М., Атомиздат, 1972, стр. 58.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*Е. И. Сухачева, В. М. Балакин, В. В. Глухих,*
*В. Г. Бурындин, З. В. Пушкарева, Т. И. Герасименко*

# ДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИМЕРОВ НА ПОВЕДЕНИЕ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМА-51 В ОРГАНИЗМЕ КРЫС

Хром попадает в организм главным образом через кожу, органы дыхания и пищеварения и быстро всасывается в кровь. При хроническом поступлении даже относительно небольших количеств шестивалентного хрома поражаются дыхательные пути и легкие, пищеварительный тракт, почки, кожа [I]. Поэтому большой интерес представляют синтез и биологические испытания соединений, предотвращающих токсическое действие этого металла.

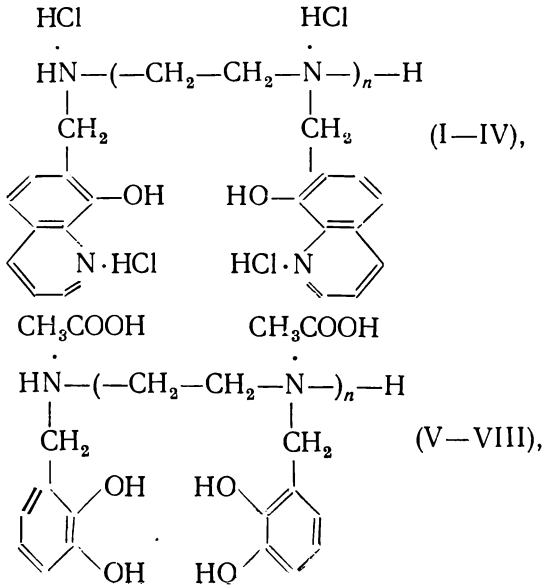
Нами синтезированы нерастворимые ионообменные полимеры с группировками производных пиридина, хинолина, пирокатехина. Предварительное скармливание с пищей некоторых из этих соединений при пероральном введении шестивалентного хрома-51 заметно повышало уровень выделения металла из кишечника [2]. Однако величина оставшейся в организме доли излучателя на 24 *час* после перорального введения бихромата натрия составляла около 21% от введенной дозы. Недостатком испытанных соединений является необходимость скармливания с пищей довольно значительных количеств анионитов для достижения эффекта (0,6 *г* на крысу), а также невозможность введения их каким-либо иным путем.

В настоящей работе описаны синтез и биологические испытания водорастворимых аналогов ранее изученных нами трехмерных ионообменных анионитов.

## Синтез и свойства водорастворимых полимеров

Водорастворимые полимеры с группировками 8-оксихинолина, пирокатехина и четвертичными группировками гетероциклического характера синтезированы на кафедре технологии красителей и лекарственных веществ Уральского политехнического института им. С. М. Кирова. Препараты I—VIII получены конденсацией полиэтиленполиаминов и формальдегида с 8-оксихинолином или

пирокатехином по методике, описанной ранее [3]. Их структурная формула:

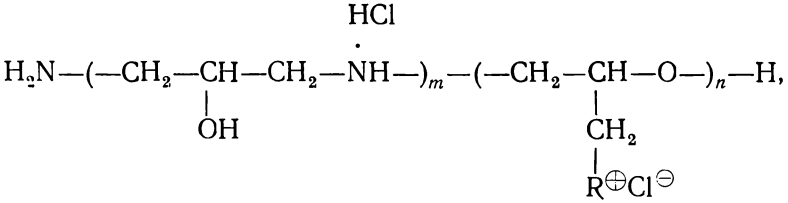


(I—IV),

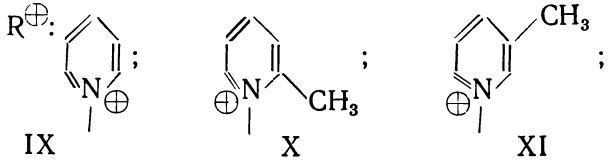
(V—VIII),

где $n=2$ (I, V), 4 (II, VI), 5 (III, VII), 9 (IV, VIII). Эти соединения имеют молекулярный вес в пределах 660—2200 и представляют собой аморфные гигроскопичные порошки от розового до темно-коричневого цвета, хорошо растворимые в воде и не растворимые в органических растворителях. Водные 0,1%-ные растворы гидрохлоридов полиэтиленполиамин-*N*-метил-8-оксихинолинов (I—IV) имеют pH 2—3, а водные 0,1%-ные растворы ацетатов полиэтиленполиамин-*N*-метилпирокатехинов — pH 4—5 (V—VIII).

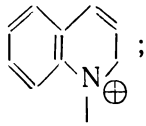
Препараты IX—XIV — продукты реакции взаимодействия олигомера эпихлоргидрина и аммиака с гетероциклическими основаниями [4]. Их структурная формула:



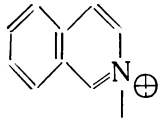
где



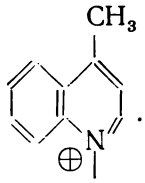
IX X XI



XII



XIII



XIV

Эти соединения представляют собой гигроскопичные порошки, хорошо растворимые в воде и этиловом спирте, с молекулярным весом в пределах 850—1100. Водные 0,2%-ные растворы гидрохлоридов полимерных четвертичных солей имеют pH 4—6.

Структура всех синтезированных соединений подтверждена данными ИК-, УФ-спектроскопии, кондуктометрического титрования и элементного анализа.

### Биологические испытания

Испытание эффективности водорастворимых полимеров проводили на самках крыс линии Вистар (средний вес 245±26 *г*), которым перорально вводили по 0,1 *г* полимера в 1 *мл* раствора, а затем через 1—2 *мин* также перорально — хром-51 в виде хромата натрия (PH 7,0; объем 0,4 *мл*; по 14 *мккюри* на крысу). Во второй серии опытов через 30 *мин* после перорального введения препарата и излучателя инъецировали внутрибрюшинно тот же полимер в предельно переносимой дозе. Животных содержали в обменных клетках и забивали через 24 *ч* под эфирным наркозом. Печень и кал высушивали до постоянного веса при 100° С, остаток тушки озоляли при 660° С в муфельной печи. Ткани затем измельчали до порошкообразного состояния. Из порошков готовили пробы на стандартных алюминиевых тарелочках. Мочу вместе со смывами с клеток выпаривали до определенного объема, из него отбирали две пробы по 1 *мл*, наносили на тарелочки и высушивали под инфракрасной лампой до постоянного веса.

Активность проб определяли сцинтилляционным датчиком NaJ(Tl) на установке «Тесла». Содержание хрома-51 в тканях и выделениях выражали в процентах от введенной дозы излучателя на крысу и в процентах от найденного баланса.

Следует отметить, что распределение и экскреция шестивалентного хрома в значительной степени определяется формой инкорпорируемого соединения. При введении per os хромата натрия выделение хрома-51 с калом через сутки (64,7%) увеличивается почти в два раза по сравнению с экскрецией излучателя из кишечного тракта, инкорпорированного в виде бихромата натрия (39%). Естественно, что на фоне столь высокого уровня выбывания радиоизотопа с калом «чистый» эффект от применения полимеров будет менее выраженным.

Таблица 1

**Выделение шестивалентного хрома-51 при пероральном введении водорастворимых полимеров и излучателя, % от баланса (93,33±1,33)**

| № соединения | Активные группы | Мол. вес | Кал | Моча |
|---|---|---|---|---|
| I | 8-Оксихинолин | 793 | 82,94 | 0,06 |
| II | » | 1200 | 80,32 | 0,48 |
| III | » | 1370 | 41,00 | 0,62 |
| IV | » | 2220 | 30,12 | 0,28 |
| V | Пирокатехин | 670 | 83,19 | 1,00 |
| VI | » | 1060 | 88,35 | 1,31 |
| VII | » | 1160 | 81,36 | 0,64 |
| VIII | » | 2100 | 80,00 | 1,07 |
| IX | Пиридиниевые | 800 | 51,46 | 1,17 |
| X | α-Пиколиниевые | 850 | 14,80 | 0,99 |
| XI | β-Пиколиниевые | 850 | 81,15 | 0,43 |
| XII | Хинолиниевые | 1000 | Токсичен | |
| XIII | Изохинолиниевые | 1000 | 72,00 | 1,64 |
| XIV | Лепидиниевые | 1080 | 33,40 | 1,10 |
| Контроль | | — | 64,77 | 3,31 |

Таблица 2

**Влияние водорастворимых полимеров на распределение шестивалентного хрома-51 в организме крыс при пероральном введении, % от баланса (93,33+1,33 %)**

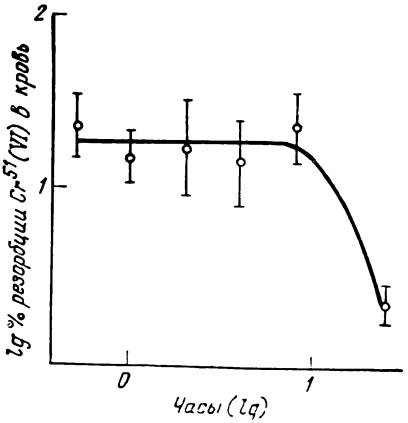
| № полимера | Печень | Тушка | Кал | Моча |
|---|---|---|---|---|
| I | 0,60±0,22 | 7,10±4,44 | 92,04±4,57 | 0,26±0,13 |
| II | 0,13±0,07 | 15,11±3,14 | 84,34±3,07 | 0,42±0,05 |
| V | 1,19±0,69 | 23,76±7,07 | 74,49±6,35 | 0,56±0,23 |
| VI | 1,11±0,65 | 10,61±1,51 | 87,55±0,94 | 0,73±0,29 |
| VII | 0,20±0,20 | 27,68±9,66 | 71,64±9,72 | 0,48±0,30 |
| VIII | 0,39±0,01 | 20,53±8,56 | 78,60±8,51 | 0,48±0,30 |
| XI | 0,59±0,29 | 18,49±0,63 | 79,67±0,85 | 1,25±0,46 |
| XIII | 0,62±0,31 | 26,23±0,80 | 71,93±0,07 | 1,22±0,42 |
| Контроль . | 2,76+0,49 | 29,15+3,48 | 64,77+3,16 | 3,32+0,83 |

Таблица 3

**Влияние комбинированного применения водорастворимых полимеров на распределение шестивалентного хрома-51, % от баланса (93,08+0,73%)**

| № полимера | Печень | Тушка | Кал | Моча |
|---|---|---|---|---|
| I | 0,41±0,14 | 99,15±0,08 | 0,06±0,01 | 0,38±0,08 |
| II | 0,22±0,01 | 99,16±0,04 | 0,19±0,11 | 0,43±0,15 |
| VI | 0,56±0,02 | 46,38±14,89 | 52,66±14,76 | 0,40±0,09 |
| Контроль . | 2,76+0,49 | 29,15+3,48 | 64,77+3,16 | 3,32+0,83 |

Результаты предварительных испытаний исследуемых соединений (табл. 1) показали, что полимеры III, IV, IX, X и XIV в большей степени по сравнению с контролем задерживали шестивалентный хром-51 в организме. Препараты I, II, V—VII, XI и XII — наоборот, увеличивали выделение излучателя с калом. Для полиэтиленполиамин-N-метил-8-оксихинолинов (I—IV) намечалась тенденция к уменьшению уровня выведения хрома-51 с калом по мере увеличения их молекулярного веса, а при применении полиэтиленполиамин-N-метилпирокатехинов (V—VIII) с разным молекулярным весом эффект был приблзительно одинаков.



Всасывание шестивалентного хрома-51 в кровь из желудочно-кишечного тракта.

Дальнейшее изучение влияния полимерных соединений 1, П, V—VIII, XI и XIII на уровень выделения хрома-51 из кишечника позволило выявить наиболее перспективные препараты (табл. 2) Так, соединения I, II, VI и XI достоверно повышали содержание излучателя в кале ($p=0{,}0017 \div 0{,}015$) по сравнению с контролем. Для других четырех препаратов эти различия были статистически недостоверными ($p=0{,}10 \div 0{,}37$). Выделение радиоактивного хрома с мочой снижалось при применении всех полимеров. Накопление его в печени достоверно падало после введения почти всех соединений ($p=0{,}009 \div 0{,}022$) а в тушке — лишь при воздействии препаратов I, II и VI ($p=0{,}07$—$0{,}037$).

Таким образом, наиболее эффективными при пероральном введении оказались полимеры I, II и VI. Особенно заметное действие оказал препарат I, после применения которого уровень выделения хрома-51 с калом достиг 92%, а содержание металла в тушке составляло всего 7,1% от введенной дозы. Несколько меньший эффект выявлен для соединений II, VI.

Препараты I, II и VI, заметно повысившие выделение радиоактивного хрома с калом, были испытаны при комбинированном применении. Крысам за 2 *мин* до инкорпорации хрома-51 также перорально вводили по 100 *мг* водорастворимых полимеров, а затем на 30-й минуте, когда в крови создается наиболее высокая концентрация излучателя (см. рисунок), внутрибрюшинно инъецировали полимеры в предельно переносимых дозах. Выделение хрома-51 из организма при воздействии соединений I и II (табл. 3) резко падало по сравнению с однократным пероральным введением (см. табл. 2) и с контролем. Заметно увеличивалось содержание излучателя в тушке и уменьшалось в печени. Препарат VI

несколько повысил задержку радиоизотопа в тушке и незначительно снизил выделение его с калом. Экскреция через почки при применении всех полимеров была чрезвычайно низкой.

Таким образом, комбинированное применение полимеров I и II в значительной мере изменяет поведение шестивалентного хрома-51 в организме по сравнению с контролем или однократным пероральным введением препаратов, а именно: повышает содержание излучателя в тушке и снижает выделение его с мочой и калом. На основании имеющихся данных не представляется возможным сделать выводы о механизмах действия изученных соединений, однако с этой точки зрения полимеры I и II заслуживают внимания и дальнейшего изучения.

## Выводы

В результате изучения влияния новых водорастворимых полимеров: полиэтиленполиамин-N-метил-8-оксихинолинов (I—IV), полиэтиленполиамин-N-метилпирокатехинов (V—VIII), полимерных пиридиниевых и хинолиниевых солей (IX—XIV) — на поведение шестивалентного хрома в организме крыс было установлено, что наибольшей активностью обладают полиэтиленполиамин-N-метил-8-оксихинолины, способные, по-видимому, связывать металл в результате не только ионного обмена, но и комплексообразования. Эти соединения при однократном пероральном введении значительно повышают уровень выделения шестивалентного хрома-51 из желудочно-кишечного тракта, однако при комбинированном воздействии способствуют почти полной задержке его в организме.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Я. М. Грушко. Соединения хрома и профилактика отравлений ими. М., Медгиз, 1964.

2. В. М. Балакин, Е. И. Сухачева, З. В. Пушкарева, В. В. Глухих, В. Г. Бурындин. Химико-фармацевт. ж., 1975, 10, 8.

3. В. М. Балакин, Ю. И. Литвинец, В. В. Глухих. Способ получения водорастворимых комплексонов. Авт. свид. СССР, № 470521, 1975 Бюлл. изобр., 1975, 18, 53.

4. Г. С. Кузнецова, В. М. Балакин, А. А. Солошенко, В. Г. Бурындин, Б. П. Середа. Ж. прикл. хим., 1975, 18, 10, 2200.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР — УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ · 1978

*А. Т. Иванников, Л. И. Тихонова,*
*В. М. Балакин, Ю. И. Литвинец*

# ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ АГЕНТОВ НА ВЫВЕДЕНИЕ УРАНА ИЗ ОРГАНИЗМА

Наиболее эффективный способ ускорения выведения радионуклидов и токсических металлов из организма — использование комплексообразующих агентов, содержащих специфические донорные атомы и группировки. Особенно широкое применение для этих целей нашли полиаминополикарбоновые кислоты, или комплексоны, которые успешно используются для удаления из организма свинца, радионуклидов марганца, железа, редкоземельных элементов, плутония и др. [1, 2]. Полиаминополиалкилфосфоновые кислоты — специфические эффективные препараты для ускорения выведения из организма урана и бериллия [3].

С целью поиска новых эффективных агентов и изучения влияния их структуры на комплексообразующие свойства были исследованы физико-химическим методом и в биологических экспериментах три полимерные иминодиуксусные кислоты различного состава и молекулярной массы, а также проверена эффективность двух азотфосфорсодержащих полихелантов.

В данной работе мы попытались оценить эффективность полимерных соединений в ускорении выведения токсических элементов, в частности урана, из организма и выяснить зависимость эффективности от молекулярной массы и устойчивости полихелата.

## Материал и методика

Исследовали три водорастворимых полимерных иминодиуксусных кислоты с различными молекулярными массами [I — $(8 \div 10) \cdot 10^3$; II — $(33 \div 35) \cdot 10^3$; III — $100 \cdot 10^3$], синтезированные карбоксиметилированием сополимеров винилпирролидона и виниламина в различном соотношении (I — 1,75; II — 3,0; III — 1,0). Потенциометрическим методом определили их эквивалентные массы, константы диссоциации и комплексообразование с уранил-ионом [ионная сила 0,1 $NaNO_3$, $t° = 20°C$]. На pH-метре ЛПУ-01 титровали $2 \cdot 10^{-3}$ и $4 \cdot 10^{-3}$ М растворы полимерных кислот ($H_2A$) в 0,1 М $NaNO_3$ 0,1 М раствором NaOH в 0,1 М растворе $NaNO_3$ [4, 5].

Наряду с этим титровали $2 \cdot 10^{-3}$ и $4 \cdot 10^{-3}$ М растворы с содержанием компонентов $UO_2(NO_3)_2 : H_2A = 1:1$, $1:2$ и $1:4$ [6].

Азотфосфорсодержащие полимерные кислоты — полиэтиленполиамин-*N*-метилфосфоновую (IV) и полиэтиленимин-*N*-метилфосфоновую (V) — синтезировали по реакции полиаминов с фосфористой кислотой и формальдегидом [7].

Биологические эксперименты выполнены на 70 белых крысах весом 150—220 *г* (по 3—5 крыс в группе). Животным подкожно вводили азотнокислый уранил в дозе 5 *мг/кг*. Препараты I, II и иминодиуксусную кислоту (ИМДА) вводили внутрибрюшинно однократно в дозе 500 *мг/кг* за сутки до введения урана и через 1 *мин* после. Препарат III вводили внутривенно в дозе 250 *мг/кг* однократно за трое суток и за 2 *мин* до введения урана. Полимеры IV и V, аминоалкилфосфоновые кислоты — этилендиаминбисметилфосфоновую (ЭДДФ) и этилендиаминбисизопропилфосфоновую (ЭДДИФ) — вводили внутрибрюшинно в дозе 100—125 *мг/г* через 1 *мин* после инъекции урана. Натриевые соли всех веществ вводили в виде 10%-ных растворов при pH $\sim 7{,}0$. Через 3 дня крыс умерщвляли и содержание урана определяли в бедренной кости и почках люминесцетным методом.

## Результаты и обсуждение

Потенциометрическим методом найдены следующие величины эквивалентных масс полимеров I—III: $381 \pm 8$, $547 \pm 12$, $303 \pm 6$ и константы диссоциации ($pK_1$ и $pK_2$ — отрицательные логарифмы констант): $3{,}38 \pm 0{,}04$ и $8{,}1 \pm 0{,}1$ (I); $3{,}30 \pm 0{,}08$ и $7{,}9 \pm 0{,}1$ (II), $4{,}09 \pm 0{,}03$ и $9{,}0 \pm 0{,}1$ (III). Изученные полимеры образуют с уранил-ионом комплексные соединения различного состава $UO_2A_2$ и $UO_2A_3$. Логарифмы их констант устойчивости равны: 12,4 и 16,2 (I); 12,2 и 16,2 (II); 11,6 (III) соответственно. Эти величины свидетельствуют о более высокой прочности комплексов уранил-иона с полимерными иминодиуксусными кислотами по сравнению с мономерным аналогом (ИМДА) ($\log K_{UO_2A} = 8{,}93$) [8]. Очевидно, это обусловлено стереохимическими особенностями структуры данного катиона, способствующими проявлению его большого сродства к полимерам [6].

В биологических экспериментах было показано, что эффективность полимерных иминодиуксусных кислот с молекулярной массой 8—10 и 33—35 тыс. аналогична эффективности ИМДА в равной весовой дозе (см. таблицу). Снижение содержания урана в органах на 15—24% наблюдалось только при последующем (через 1 *мин*) введении препаратов. При предварительном введении за сутки содержание урана в скелете не отличалось от контроля, а в почках наблюдалось небольшое увеличение его (на 18—25%). Отсутствие эффекта полимерных соединений показывает, что соединения с молекулярной массой 8—10 и 33—35 тыс.,

**Содержание урана в органах крыс после введения препаратов, % от введенного количества**

| Соединения | Молекулярная масса | Введенная доза, *мг/кг* | Время введения | Скелет | Почки |
|---|---|---|---|---|---|
| Контроль | — | — | — | 34,6±2,66 (100)** | 8,8±1,08 (100) |
| ИМДА | 133 | 500 | За 1 сутки д.в.* | 35,6±4,88 (102,8) | 10,9±1,56 (123,9) |
| | 133 | 500 | Через 1 *мин* п. в. | 26,8±1,63 (77,4) | 7,2±0,7 (81,8) |
| Полимер I | 8—10 тыс. | 500 | За 1 сутки д. в. | 32,9±2,89 (95,1) | 11,1±1,15 (125,5) |
| | 8—10 тыс. | 500 | Через 1 *мин* п. в. | 26,5±1,91 (76,6) | 7,2±1,39 (81,8) |
| Полимер II | 33—35 тыс. | 500 | За 1 сутки д. в. | 34,0±3,85 (98,4) | 10,4±1,4 (118,2) |
| | 33—35 тыс | 500 | Через 1 *мин* п. в. | 26,3±2,28 (82,1) | 6,8±1,1 (77,5) |
| Полимер III | 100 тыс. | 250 | За 3 сутки д. в. | 29,3±3,13 (84,7) | 9,4±1,38 (106,5) |
| | 100 тыс. | 250 | За 1 сутки д. в. | 31,9±2,4 (92,1) | 9,0±0,42 (102,4) |
| | 100 тыс. | 250 | За 2 *мин* д. в. | 36,9±1,97 (106,7) | 10,2±2,31 (116,0) |
| Контроль | — | — | — | 40,9±4,58 (100) | 16,8±1,51 (100) |
| Полимер IV | 1000 | 100 | Через 1 *мин* п. в. | 12,9±0,79 (31,6) | 5,3±1,12 (31,5) |
| Полимер V | 4000 | 100 | » | 21,2±3,12 (51,8) | 2,7±0,23 (16,2) |
| Контроль | — | — | — | 26,3±1,57 (100) | 12,5±1,1 (100) |
| ЭДДФ | 284 | 125 | Через 1 *мин* п. в. | 16,0±3,77 (60,8) | 2,5±0,4 (20,2) |
| ЭДДИФ | 384 | 125 | » | 21,8±1,72 (82,7) | 3,2±0,43 (25,7) |

* д. в. — до введения, п. в. — после введения.
** В скобках указаны % от контроля.

в основном, также быстро выводятся из организма, как и мономерные. Некоторое повышенное содержание урана в почках при этом, по-видимому, результат неполного выведения препаратов из организма в течение первых суток. Как при предварительном введении полимерного соединения III с молекулярной массой 100 тыс. (за 1 и 3 суток), так и при одновременном (за 2 *мин* до инъекции урана) не отмечено снижения содержания урана в органах по сравнению с контролем, за исключением снижения его на 15% в скелете при предварительном введении (за трое суток) этого полимера. Отсутствие эффективности высокомолекулярного полимера при введении за 2 *мин* и 1 сутки обусловлено его неспособностью выводиться через почки, так как через мальпигиевы клубочки фильтруются вещества с молекулярной массой, не превышающей 40—50 тыс. Небольшое снижение содержания урана в скелете при введении полимера III за 3 суток трудно объяснимо. Можно предположить, что при длительной циркуляции в организме этот полимер частично разрушается.

Таким образом, проведенные исследования дают основание полагать, что полимерные иминодиуксусные соединения, обладающие способностью выводиться из организма, в равной весовой дозе оказывают такой же эффект, как и мономерные соединения. Однако на основании различия молекулярной массы ИМДА (133) и эквивалентной массы полимеров (381 и 547) можно считать, что полимерные соединения обладают такой же эффективностью, как и мономерные соединения, но в меньшей равноэквивалентной дозе. Это положение подтверждается константами устойчивости комплексов полимеров и ИМДА с ураном.

При изучении фосфоновых полимеров установлена их высокая эффективность в выведении урана из организма. Как следует из таблицы, полимер с молекулярной массой 1000 (IV) более эффективен в снижении содержания урана в скелете по сравнению с полимером молекулярной массы 4000 (V), но уступает последнему почти в 2 раза в снижении содержания урана в почках. По способности уменьшать накопление урана в скелете оба полимера, особенно IV, оказались эффективнее фосфоновых мономеров, если сравнить их действие в близкой весовой дозе.

Прочность изученных полихелатов I—III с $UO_2^{2+}$ несколько выше, чем у ассоциатов данного иона с такими биолигандами, как альбумин сыворотки крови и липопротеиды мембран эритроцитов ($\log K = 10{,}44$ и 8,92 соответственно [9]). Поэтому эффективность этих полимеров в выведении урана из организма невысока. Возможно, наблюдаемый эффект можно объяснить и низкой концентрацией полимеров или их частичным разрушением, вследствие чего их доза постоянно уменьшается и соответственно понижается их эффективность. Однако мы не располагаем данными об их действующей концентрации, их распределении в органах и выведении из организма. Имеющиеся сведения о выведении поли-

винилпирролидона [10] не могут полностью характеризовать поведение полимерных иминодиуксусных кислот.

Полимерные иминодиуксусные кислоты с молекулярными массами 8—35 тыс. достаточно быстро выводятся из организма, как и мономерный аналог, но оказываются более эффективными агентами для связывания и выведения урана, чем ИМДА, что обусловлено особым сродством уранил-иона к полимерным соединениям.

Полимерные аминоалкилфосфоновые кислоты — эффективные препараты. Они способствуют значительному ускорению удаления урана из организма (подобно мономерным полиаминополиалкилфосфоновым кислотам), что свидетельствует о высоких специфических комплексообразующих свойствах данных лигандов по отношению к уранил-иону. Проведенные исследования позволяют говорить о перспективности применения полимерных комплексообразующих агентов для выведения из организма.

## ЛИТЕРАТУРА


1. Ю. Ф. Коваль. Ускорение выведения из организма радиоактивных изотопов. М., Атомиздат, 1972.
2. A. Catsch. Dekorporierung von radioactiver und stabiler Metallionen. Therapeutische Gründlagen. München, 1968.
3. В. С. Балабуха, А. Т. Иванников, О. Г. Архипова, Л. И. Тихонова. Уран и бериллий. Проблема выведения из организма. М., Атомиздат, 1976.
4. Л. И. Тихонова, О. И. Самойлова, Е. Ф. Панарин, В. Г. Яшунский. Высокомолек. соед., 1974, **16 А**, 12, 2646.
5. Л. И. Тихонова, О. И. Самойлова, Е. Ф. Панарин, В. Г. Яшунский. Высомомолек, соед., 1973, **15 Б**, 12, 874.
6. Л. И. Тихонова. Ж. физ. хим., 1974, **48**, 4, 828.
7. Ю. И. Литвинец. Синтез и свойства новых поликомплексонов на основе полиаминов. (Автореф. канд. дисс.). Свердловск, 1974.
8. K. S. Rajan, A. E. Martell. J. Inorg. Nucl. Chem., 1964, **26**, 5, 789.
9. С. Чевери, Д. Лихнер. Мед. радиология, 1968, **13**, 1, 53.
10. B. Hulme, P. W. Dynes, G. Appleyard, D. W. Arkell. J. Nucl. Med., 1968, **9**, 7, 389.

## СОДЕРЖАНИЕ

И. П. Трегубенко, Б. В. Голомолзин, И. Я. Постовский, В. И. Филякова, Э. А. Тарахтий. 2-(Диметиламиноалкил)тио-3-арилхиназолоны-4 как гетероциклические аналоги радиозащитных аминотиолов 3

Б. В. Голомолзин, И. П. Трегубенко, Э. А. Тарахтий, Л. Н. Расина, О. Н. Тихонова. Радиозащитные свойства 2-(β-диалкиламиноэтил)тиозамещенных хиназолонов . . . . . 14

И. Я. Постовский, А. П. Новикова, Л. А. Чечулина, Л. Н. Любомудрова. Антиокислительная и противолучевая активность оснований Манниха в ряду пирогаллола и оксигидрохинона . . . . . 24

Б. Н. Лапин, Л. Н. Расина, А. П. Новикова. Синтез и противолучевая активность азометинов в ряду триоксибензальдегидов . . . . . 29

И. Я. Постовский, А. П. Новикова, Л. П. Сидорова, Л. А. Чечулина, И. П. Трегубенко. 2-Амино- и 2-гидразинотиазолы, содержащие остатки полифенолов в положении 4, как протекторы лучевого поражения . . . . . 35

В. Г. Китаева, Н. М. Воронина, Н. И. Латош, Б. Н. Лапин, В. П. Мамина. Синтез и биологические исследования некоторых производных тетразола 42

М. И. Ермакова, Л. Н. Воронцова, Э. А. Тарахтий, Б. Н. Лапин. Соли тетразолия и их противолучевые свойства . . . . . 47

Л. Н. Расина, Д. И. Семенов. Динамика изменений кишечного эпителия крипт мышей, облученных и защищенных меркамином . . . . . 59

И. А. Шихова, М. И. Ермакова, Н. И. Латош. Комплексообразование формазанов с иттрием и церием 63

И. М. Белова, Н. И. Латош, Д. И. Семенов, Е. И. Сухачева, Г. А. Меньшикова, Т. П. Архипова. Комплексоны на основе амино- и диаминопиридинов 70

Д. И. Семенов, В. М. Балакин, Ю. И. Литвинец, Е. И. Сухачева, Т. П. Архипова, Т. А. Смирнова. Выведение из организма радиоактивных стронция-85, иттрия-91 и церия-144 поликомплексонами — производными полиэтиленполиамина и полиэтиленимина 87

Е. И. Сухачева, В. М. Балакин, В. В. Глухих, В. Г. Бурындин, З. В. Пушкарева, Т. И. Герасименко. Действие водорастворимых полимеров на поведение шестивалентного хрома-51 в организме крыс . . . . . 95

А. Т. Иванников, Л. И. Тихонова, В. М. Балакин, Ю. И. Литвинец. Влияние полимерных комплексообразующих агентов на выведение урана из организма 101

УДК 547.856.1 : 541.69 : 577.391

**2-(Диметиламиноалкил)тио-3-арилхиназолоны-4 как гетероциклические аналоги радиозащитных аминотиолов.** Трегубенко И. П., Голомолзин Б. В., Постовский И. Я., Филякова В. И., Тарахтий Э. А. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

В качестве потенциальных противолучевых средств синтезированы производные хиназолинов, содержащих у гетероциклического ядра легкоотщепляющиеся остатки диметиламиноалкилтиолов — 2-диметиламиноалкилтио-3-арилхиназолоны-4. Установлено, что скорость гидролитического отщепления аминотиольного остатка у этих веществ увеличивается при удлинении алкильной цепи аминотиольного остатка и при увеличении электроноакцепторности 3-арильного заместителя. При биологических испытаниях выявлена радиозащитная активность этих веществ, максимальная для 2-(β-диметиламиноэтил)тио-3-*n*-метоксифенилхиназолона-4 (выжило 92% облученных мышей). Удлинение и разветвление цепи аминотиольного остатка и изменение арильного заместителя снижают противолучевой эффект.

Таблиц. 3. Библиогр. 8 назв.

УДК 547.856.1 : 541.69 : 577.391

**Радиозащитные свойства 2-(β-диалкиламиноэтил)тиозамещенных хиназолинов.** Голомолзин Б. В., Трегубенко И. П., Тарахтий Э. А., Расина Л. Н., Тихонова О. Н. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Синтезированы потенциально противолучевые средства: 2-(β-диалкиламиноэтил)тио-3-арилхиназолоны-4 и их 4-тиоаналоги, способные к гидролитическому отщеплению диалкиламиноэтильного остатка, скорость которого увеличивается с возрастанием электроноакцепторности арильного заместителя. В биологическом эксперименте обнаружена радиозащитная активность этих веществ, причем степень и продолжительность эффекта увеличиваются с уменьшением скорости отщепления диалкиламинотиольного остатка. Замена в боковой цепи диэтиламиногруппы на циклоалкиламинную снимает радиозащитное действие. Преимущество исследованных препаратов перед β-меркаптоэтиламином — бóльшая продолжительность радиозащитного действия, обусловленная, вероятно, медленным отщеплением свободного аминотиола.

Таблиц 3. Библиогр. 5 назв.

УДК 547.564.4.66 : 577.391

**Антиокислительная и противолучевая активность оснований Манниха в ряду пирогаллола и оксигидрохинона.** Постовский И. Я., Новикова А. П., Чечулина Л. А., Любомудрова Л. Н. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Получена серия морфолинометильных и пиперидинометильных производных в ряду пирогаллола и оксигидрохинона и изучены их антиокислительные и противолучевые свойства. Основания Манниха получены при нагревании эквимолекулярных количеств фенола (альдегида или его оксима), амина и формальдегида в спиртовом растворе. Соединения получены с

высоким выходом, хорошо растворимы в воде и органических растворителях и обладают амфотерными свойствами.

Антиокислительную активность изучали на жировой модели (олеиновая кислота) при пропускании кислорода в течение 6 *ч* при 40° С. Количество перекисей определяли иодометрическим титрованием. Все основания Манниха показали антиокислительную активность.

Токсичность и противолучевую активность изучали на мышах линии BALB. Соединения в ряду пирогаллона менее токсичны, чем в ряду оксигидрохинона. Препараты вводили внутрибрюшинно в максимально переносимой дозе за 5—45 *мин* до облучения. Соединения с оксимной группировкой имеют одинаковый противолучевой эффект при введении за 15 и 30 *мин* до облучения. Два соединения показали значительный противолучевой эффект (50—58% выживания), связанный, вероятно, с антиокислительной активностью этих соединений.

Таблиц 1. Иллюстраций 1. Библиогр. 7 назв.

УДК 547.564.4.66 : 577.391

**Синтез и противолучевая активность азометинов в ряду триоксибензальдегидов.** Лапин Б. Н., Расина Л. Н., Новикова А. П. «Органический синтез и биологическая активность. «Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

С целью получения новых противолучевых соединений синтезирована серия оснований Шиффа в ряду 2, 4, 5-триоксибензальдегида и пирогаллового альдегида. Синтез азометинов проводился при нагревании соответствующего альдегида и первичного амина в водном или спиртовом растворе. Получены азометины с 1-дезокси-1-аминосорбитолом, 1-дезокси-1-аминорибитолом, аминогуанидином, антраниловой кислотой, о-аминофенолом. В ИК-спектрах полученных соединений имеется характерная для азометинов полоса колебаний в области 1600—1640 $см^{-1}$.

Изучена токсичность и противолучевая активность азометинов на мышах линии BALB и CBA. Препараты вводили внутрибрюшинно за 5—40 *мин* до облучения. В ряду пирогаллового альдегида азометины менее токсичны, чем в ряду 2, 4, 5-триоксибензальдегида. Значительную противолучевую активность (выживало 50—58% облученных мышей) проявили в ряду пирогаллового альдегида соединения с остатком аминосорбитола и антраниловой кислоты; в ряду 2, 4, 5-триоксибензальдегида — соединение с остатком аминодибитола. Наибольший противолучевой эффект наблюдался при введении соединений за 15 *мин* до облучения.

Таблиц 2. Библиогр. 9 назв.

УДК 547.789.1.07 : 577.391

**2-Амино- и 2-гидразинотиазолы, содержащие остатки полифенолов в положении 4, как протекторы лучевого поражения.** Постовский И. Я., Новикова А. П., Сидорова Л. П., Чечулина Л. А., Трегубенко И. П. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Синтезирована серия 2-амино- и 2-гидразинотиазолов, содержащих полифенольные остатки, как потенциально эффективных радиопротекторов. Соединения, содержащие в положении 4 полифенолы, проявляют выраженную антиокислительную активность, полученную на жировой модели. В биологических

испытаниях на противолучевую активность в ряду испытанных аминотиазолов два соединения оказали выраженный защитный эффект. При этом не получено корреляции протекторных свойств и антиокислительной активности.

Таблиц 1. Иллюстраций 1. Библиогр. 8 назв.

УДК 547.796.1 : 612.014.48 : 577 : 391

**Синтез и биологические исследования некоторых производных тетразола.** Китаева В. Г., Воронина Н. М., Латош Н. И., Лапин Б. Н., Мамина В. П. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Синтезировано восемь 5-алкил(арил)замещенных тетразола. Изучена токсичность и противолучевая активность на животных (мыши линии BALB и CBA). Показано, что три соединения обладают слабой противолучевой активностью, длящейся короткое время.

Таблиц 2. Библиогр. 8 назв.

УДК 547.795.5 : 577.391

**Соли тетразолия и их противолучевые свойства.** Ермакова М. И., Воронцова Л. Н., Тарахтий Э. А., Лапин Б. Н. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Окислением соответствующих формазанов осуществлен синтез некоторых солей тетразолия $R_1N{=}N{-}C(R_2){=}N{-}N^+{-}R_3X^-$. Приведен синтез исходных формазанов. Тетразолиевые соли испытаны на противолучевую активность (на мышах). Только два препарата показали защитный эффект: трифенилтетразолий хлорид (выживаемость 58% и 2-(2-карбоксифенил)-3-(2″-окси-5″-сульфофенил)-5-ацетилтетразолий (выживаемость 66%).

Таблиц 3. Иллюстраций 3. Библиогр. 9 назв.

УДК 577.391 : 591 : 875 : 547.875

**Динамика изменений кишечного эпителия крипт мышей, облученных и защищенных меркамином.** Расина Л. Н., Семёнов Д. И. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Исследовали динамику изменений общей клеточности, митотической активности и числа бокаловидных клеток крипт тонкого кишечника. Меркамин не предотвращал, хотя и сокращал, длительность падения числа эпителиальных клеток. Однако, по-видимому, ослаблял степень поражения клеток, в связи с чем менее была выражена компенсаторная реакция (временное резкое превышение исходной клеточности) при восстановлении. У защищенных, вероятно, система эпителия менее расшатана, насколько можно судить по не столь выраженным колебаниям клеточности, что особенно видно на секретирующих слизь клетках.

Таблиц 1. Библиогр. 5 назв.

УДК 547.04.07.337+541.49 : 612.015.3

**Комплексообразование формазанов с иттрием и церием** Шихова И. А., Ермакова М. И., Латош Н. И. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Потенциометрическим и спектрофотометрическим методами изучено взаимодействие водорастворимых формазанов, содержащих в ортоположении к формазанной цепи комплексообразующие группы (OH, COOH, $AsO_3H_2$, $PO_3H_2$ и др.) с катионами $Y^{3+}$ и $Ce^{3+}$; рассчитаны константы устойчивости комплексов. Установлено влияние природы заместителей в мезоположении и в фенильных кольцах формазанов на область существования и прочность комплексов с иттрием и церием.

Таблиц 1. Илюстраций 3. Библиогр. 12 назв.

УДК 547.826.2,4 : 547.469 : 612.015.3

**Комплексоны на основе амино- и диаминопиридинов.** Белова И. М., Латош Н. И., Семенов Д. И., Сухачева Е. И., Меньшикова Г. А., Архипова Т. П. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Синтезированы новые комплексоны: 2-аминопиридиндиуксусная кислота (I), 2,6- и 2,3-диаминопиридинтетрауксусные кислоты (II, III) и 2,6-диаминометилпиридинтетрауксусная кислота (IV). Потенциометрическим титрованием определены константы кислотной диссоциации и устойчивости комплексов с некоторыми металлами. Рассчитаны константы устойчивости (при соотношении лиганд: металл=1 : 1) монопротонированного и нормального моноядерного комплекса для соединения IV с щелочноземельными металлами; константы устойчивости с $Co^{2+}$, $Cd^{2+}$, $Ni^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Cu^{2+}$ рассчитаны методом конкурирующих реакций в присутствии вспомогательных лиганда и металла.

В опытах на крысах установлено, что на распределение стронция-85 комплексоны не оказывают воздействия, а при выведении иттрия-91 и церия-144 эффективен только комплексон IV, который по некоторым показателям превосходит ЭДТА, но уступает ДТПА. Данные биологических испытаний коррелируют с константами устойчивости.

Таблиц 4. Иллюстраций. 1. Библиогр. 21 назв.

УДК 612.015.3 : 621.039.85 : 591

**Выведение из организма радиоактивных иттрия-91, церия-144 и стронция-85 поликомплексонами — производными полиэтиленполиамина и полиэтиленимина.** Семенов Д. И., Балакин В. М., Литвинец Ю. И., Сухачева Е. И., Архипова Т. П., Смирнова Т. А. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

На основе полиэтиленполиамина (ПЭПА) и полиэтиленимина (ПЭИ) синтезированы новые комплексоны с аминоацетатными, метилфосфоновыми и аминопропионовыми комплексующими группами с молекулярным весом 1000—70000. Соединения с аминоацетатными и метилфосфоновыми группировками заметно ускоряли выведение иттрия-91 с мочой как при раннем применении, так и при позднем. Аминопропионовые производные оказались малоэффективными.

Ускорение выведения церия-144 вызывала ПЭПА-N-метилфосфоновая кислота; этот же комплексон при раннем применении заметно увеличивал экскрецию стронция-85 с мочой. Аминоацетатные производные ПЭИ также повышали выбывание стронция-85 через почки, но в меньшей степени, чем аминометалфосфоновые производные ПЭПА; аминоацетатное производное ПЭПА не оказало влияния на этот процесс.

Таблиц 7. Библиогр. 12 назв.

УДК 612.015.3.612.332.7

**Действие водорастворимых полимеров на поведение шестивалентного хрома-51 в организме крыс.** Сухачева Е. И., Балакин В. М., Глухих В. В., Бурындин В. Г., Пушкарева З. В., Герасименко Т. И. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Синтезированы новые растворимые в воде аналоги трехмерных ионообменных анионитов, ускоряющих выделение шестивалентного хрома-51 через кишечник, с группировками 8-оксихинолина, пиррокатехина и четвертичными гетероциклического характера.

Ускоряющее влияние на выделение шестивалентного хрома-51 с калом при пероральном введении полимеров за 1—2 *мин* до инкорпорации излучателя через рот оказали 8-оксихинолиниевые, пирокатехиновые и β-пиколиниевые производные. Дополнительное введение полимеров внутрибрюшинно вызывало резкое снижение экскреции хрома-51 через кишечник и увеличение задержки его в организме.

Таблиц 3. Библиогр. 4 назв.

УДК 612.015.3 : 591

**Влияние полимерных комплексообразующих агентов на выведение урана из организма** Иванников А. Т., Тихонова Л. И., Балакин В. М., Литвинец Ю. И. «Органический синтез и биологическая активность». Свердловск, 1978 (УНЦ АН СССР).

Изучена эффективность трех полимеров разного молекулярного веса, синтезированных карбоксиметилированием сополимеров виниламина и винилпирролидона, иминодиуксусной, этилендиаминбисметилфосфоновой и изопропилфосфоновой кислот, а также новых препаратов — полиэтиленимин- и полиэтиленполиамин- N-метилфосфоновой кислоты — в предотвращении отложения урана в скелете и почках. Для полимеров определены эквивалентные массы, константы кислотной диссоциации и устойчивости комплексов с уранил-ионом. Показана большая эффективность полимерных комплексонов по сравнению с мономерными.

Таблиц 1. Библиогр. 10 назв.

**ОРГАНИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

**Труды Института химии УНЦ АН СССР, вып. 37.**
**Труды Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР, вып. 123**

*Утверждено к печати Редакционно-издательским советом Уральского научного центра АН СССР*

Редактор Л. Н. Петленко
Обложка художника М. Н. Гарипова
Техн. редактор Н. Р. Рабинович
Корректоры Л. Н. Петленко, О. П. Естишина

РИСО УНЦ № 851—8(78). Сдано в набор 18/VIII 1977 г. НС 15120. Подписано к печати 22/II 1978 г. Формат 60×90 1/16. Усл.-печ. л. 7. Уч.-изд. 7,8. Бумага типографская № 1. Тираж 800. Заказ 515. Цена 78 коп.

РИСО УНЦ АН СССР.
Свердловск, ГСП-169, Первомайская, 91.
Типография изд-ва «Уральский рабочий», г. Свердловск, проспект Ленина, 49.