

вируса. Смесь выдерживали 1 ч при 14 °С и вводили в аллантоисную полость 9-дневных куриных эмбрионов в объеме 0,2 мл. Через 48 ч инкубации в термостате при 37 °С определяли активность веществ в аллантоисной жидкости куриных эмбрионов путем титрования вируса с помощью реакции гемагглютинации. Активность веществ выражали в количестве нейтрализованных ИД<sub>50</sub> вируса гриппа.

Химиотерапевтическую активность изучали на мышах с гриппозной пневмонией. Белым нелинейным мышам массой 18—20 г за 1 ч до интраназального заражения вирусом гриппа вводили исследуемое вещество *per os* в максимально переносимой и меньших дозах с последующим лечением их в течение 4 дней. Химиотерапевтическую активность оценивали через 14 дней наблюдения, сравнивая число выживших мышей в опытной и контрольной группах.

Из изученных веществ соединение X оказывает выраженное вирулицидное действие: в концентрации 1 мг/мл оно снижает титр вируса по сравнению с контролем на 3 lg ИД<sub>50</sub>, в концентрации 0,1 мг/мл — на 1 lg ИД<sub>50</sub>. Химиотерапевтическим действием на модели гриппозной пневмонии мышей соединение X не обладает.

Результаты настоящей работы указывают на целесообразность поиска новых активных противовирусных средств в ряду аминокислотных производных 4-окси-5-метоксиндола.

Поступила 23.01.84

◆ УДК 615.849.2.015.25:547.853.3].012.1

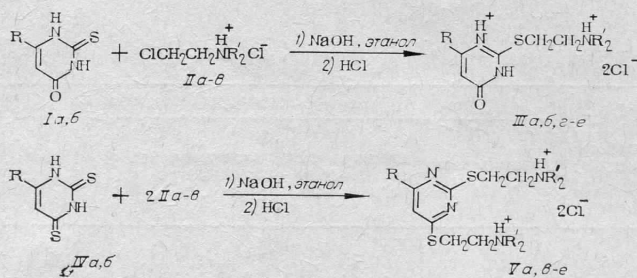
*Б. В. Голомолзин, Э. А. Тарахтий, И. П. Трегубенко, Н. М. Перова*

#### **СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ РАДИОЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ПИРИМИДИНОВЫХ АНАЛОГОВ ИЗОТИУРОНИЯ**

Уральский политехнический институт им. С. М. Кирова, Институт экологии растений и животных УНЦ АН СССР, Свердловск

Высокие радиозащитные свойства β-аминоэтилзотиуруния (АЭТ) побудили исследователей к изучению большого числа производных этого класса [8]. Сравнительно мало изученными являются гетероциклические аналоги АЭТ — соединения, содержащие амидиновую группировку в составе гетероциклического кольца; здесь можно указать на аминотиольные производные пурина [2, 3], имидазолина [4, 9], бензимидазола [5], хиназолина [1, 6], показавшие в ряде случаев выраженную радиозащитную активность. В продолжение работы по поиску новых более эффективных радиопротекторов представляло интерес исследование аминотиольных производных, содержащих пиримидиновый цикл — одну из основных биогенных структур в нуклеиновых основаниях.

Алкилированием 2-тио-6-R-урацилов (Ia, б) и 2,4-дитио-6-R-урацилов (IVa, б) β-диалкиламиноэтилхлоридами (IIa-в) в спиртово-щелочной среде и дальнейшей обработкой продуктов хлористым водородом были получены целевые соединения — дигидрохлориды 2-(β-диалкиламиноэтил)тио-6R-пиримидинон-4 (IIIa, б, г-е) и 2,4-бис(β-диалкиламиноэтил)тио-6-R-пиримидинов (Va, в-е), которые можно рассматривать как пиримидиновые аналоги изотиуруния. На примерах соединений IIIб и Vг показана их способность к гидролитическому расщеплению с образованием 6-метилурацила (VI) и свободного аминотиола (VII), что, во-первых, доказывает их химическое строение и, во-вторых, позволяет предполагать наличие у них радиозащитной активности. Все соединения III имеют сходные УФ-спектры, так же как и соединения V.



R = H (Ia, IIIa, д, IVa, Va, в, д); CH<sub>3</sub> (Iб, IIIб, г, е, IVб, Vг, е); R<sup>1</sup> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (IIa, IIIa, б, Va); NR<sub>2</sub><sup>1</sup> = пиперидино (IIб, IIIг, Vв, г); NR<sub>2</sub><sup>1</sup> = морфолино (IIв, IIIд, е, Vд, е).

### Экспериментальная химическая часть

УФ-спектры сняты на приборе «Specord UV-VIS» в водных растворах с концентрацией веществ 1·10<sup>-3</sup> М.

**Дигидрохлориды 2-(β-диалкиламиноэтил)тио-6-R-пиримидинонов (IIIa, б, г-е).** В растворе 5,2 г (120 ммоль) NaOH в 30 мл абсолютного этанола растворяют 40 ммоль Ia, б, приливают раствор 40 ммоль IIa-в (получены по [7]) в 20 мл абсолютного этанола и кипятят 3 ч. Нейтрализуют концентрированной HCl до pH 7,0, отфильтровывают осадок NaCl и отгоняют этанол. Маслообразный остаток растворяют в 50 мл абсолютного этанола и пропускают через полученный раствор газообразный HCl до насыщения. Выпавший после охлаждения осадок III отфильтровывают и кристаллизуют из абсолютного этанола. Выход 40—45%. Соединения IIIa, б, г-е — бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде (табл. 1).

**Дигидрохлориды 2,4-бис(β-диалкиламиноэтил)тио-6-R-пиримидинонов (Va, в-е).** В растворе 2,1 г (50 ммоль) NaOH в 25 мл абсолютного этанола растворяют 10 ммоль IVa, б и приливают раствор 20 ммоль IIa-в в 25 мл абсолютного этанола. Дальше ведут реакцию по методике, приведенной выше для соединений III. Соединения Va, в-е — бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде. Выход 50—55% (см. табл. 1).

**Гидролиз соединений IIIб и Vг.** 1 ммоль IIIб или Vг кипятят 3 ч в 10 мл 6 н. HCl. Раствор упаривают наполовину, из остатка при охлаждении выпадает продукт VI, хроматографически и по УФ-спектрам идентичный 6-метилурацилу. УФ-спектр (λ<sub>max</sub>, нм; ε·10<sup>-3</sup>): 207, 6,10; 260, 7,68. β-Диалкиламиноэтилмеркаптан обнаруживается в маточном растворе после отделения VI цветной реакцией на группу SH — фиолетовым окрашиванием раствора нитропруссидом натрия в щелочной среде (при изучении подобного же гидролиза 2-β-диалкиламиноэтилтиохиназолинов [6] β-диалкиламиноэтилмеркаптаны были выделены и идентифицированы в виде гидрохлоридов).

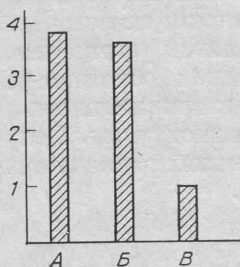
Таблица 1

Дигидрохлориды 2-(β-диалкиламиноэтил)тио-6-R-пиримидинонов-4 (IIIa, б, г-е) и 2,4-бис(β-диалкиламиноэтил)тио-6-R-пиримидинонов (Va, в-е)

Соединение	Т. пл., °С	Найдено, %				Брутто-формула	Вычислено, %				УФ-спектр	
		С	Н	Cl	N		С	Н	Cl	N	λ <sub>max</sub> , нм	ε·10 <sup>-3</sup>
IIIa	172—4	39,6	6,2	23,8	13,8	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> OS	40,0	6,3	23,7	14,0	229	14,2
IIIб	212—3	42,0	7,0	...	13,2	C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> OSCl <sub>2</sub>	42,0	6,7	22,6	13,3	228	16,9
IIIг	215—7	44,0	6,4	21,7	12,8	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> OS	44,2	6,4	21,8	12,9	229	20,9
IIIд	169—70	38,6	5,7	22,1	13,1	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	38,2	5,4	22,6	13,4	229	24,6
IIIе	218—20	39,6	5,7	21,8	12,6	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	40,2	5,8	21,6	12,8	229	17,9
Va	237—9	45,7	7,6	17,1	13,5	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	46,3	7,7	17,1	13,5	248	19,7
											297	6,5
Vв	262—4	49,3	7,4	16,0	12,9	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	49,2	7,3	16,2	12,8	248	22,1
											298	7,5
Vг	263—5	50,1	7,7	16,8	12,3	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	50,3	7,5	15,7	12,3	248	21,2
											296	7,3
Vд	240—2	43,3	6,3	16,1	12,8	C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	43,3	6,3	16,0	12,6	248	19,6
											298	6,2
Ve	246—8	44,3	6,6	...	12,3	C <sub>17</sub> H <sub>30</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	44,6	6,6	15,5	12,2	247	18,1
											295	6,5



## Экспериментальная часть



Содержание IgE-антител в крови крыс.

A — 8-й день после иммунизации; Б — 14-й день после иммунизации; В — 20-й день после иммунизации. По оси ординат — среднее значение  $\log_2 T$ . А неотличимо от Б и больше В ( $P < 0,01$ ), Б больше В ( $P < 0,01$ ).

Опыты проводили на крысах-самцах популяции Вистар массой 225—250 г. Животных иммунизировали подкожным введением овальбумина, перекристаллизованного пятикратно.

Крысы 1-й группы получали 1 инъекцию, содержащую 1 мг антигена, 2-й — 3 инъекции по 0,33 мг белка с интервалом 12 ч, 3-й — 5 инъекций по 0,2 мг белка с интервалом 6 ч, 4-й — 48 инъекций по 20,8 мкг белка с интервалом 30 мин, 5-й — 48 инъекций по 1 мг белка с интервалом 30 мин. Контролем служили неиммунизированные крысы.

Через 8, 14 и 20 сут после иммунизации животных 1-й группы или после заключительной инъекции антигена животным 2—5-й групп 8 крыс из каждой группы забивали под эфирным наркозом и в сыворотке их крови методом пассивной кожной анафилаксии [10] определяли количество реактиноподобных IgE-антител. Каждую пробу сыворотки испытывали на 3 различных животных. Содержание антител выражали в виде  $\log_2 T$ , где  $T$  — наименьшее разведение сыворотки, которое вызвало образование окрашенного пятна со средним диаметром менее 5 мм. Результаты эксперимента обрабатывали статистически по критерию Вилкоксона — Манна — Уитни [2].

**Результаты и их обсуждение.** Из всех испытанных схем иммунизации только многократные инъекции овальбумина в дозе 20,8 мкг (4-я группа) привели к появлению в крови крыс заметного количества IgE-антител (см. рисунок). У животных остальных групп сывороточные IgE-антитела в течение всего периода наблюдения не были обнаружены.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у крыс популяции Вистар продукция противоовальбуминовых IgE-антител может быть индуцирована без адъювантов — путем применения специальной схемы иммунизации. При этом IgE-антитела содержатся в крови животных в течение относительно короткого времени, что делает эту модель удобной для использования при оценке влияния химических соединений как на интенсивность продукции IgE-антител, так и на длительность этого процесса.

В экспериментах установлено, что индукция синтеза противоовальбуминовых IgE-антител у крыс существенно зависит от дозы антигена и от схемы его введения. Так, показано, что введение 1 мг антигена в виде 1 инъекции (1-я группа) или за 3 и 5 инъекций с длительными перерывами (2-я и 3-я группы) малоэффективно. Инъекции антигена в этой же суммарной дозе, но с короткими промежутками времени (4-я группа) приводили к заметной индукции синтеза IgE-антител. Сравнение результатов эксперимента на животных 4-й и 3-й групп, которых иммунизировали по одной и той же схеме, но разными дозами антигена, показало, что синтез IgE-антител эффективнее индуцируется более слабой антигенной нагрузкой.

Таким образом, показана способность IgE-синтезирующей системы активироваться при длительном поступлении в организм малых доз антигена, что, по-видимому, отражает особенности физиологического функционирования этой системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А. Д. Общая аллергология. М., 1978.
2. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. М., 1978.
3. Гуцин И. С. Немедленная аллергия клетки. М., 1976.
4. Ионов И. Д. — Хим. фарм. ж., 1983, № 5, с. 571—575.
5. Ковалев И. Е. — Пат. физиол., 1981, № 3, с. 65—71.
6. Vazin H., Pauwels R. — Monogr. Allergy, 1979, v. 14, p. 23—26.