

УДК 547.792.1,547.796.1,615.252.349.7

Хлорангидрид (5-фенилтетразол-2-ил)уксусной кислоты как ключевой реагент синтеза неаннелированных полиядерных тетразолсодержащих соединений с потенциальной противодиабетической активностью*

В. А. Островский,^{а,б*} Н. Т. Шманёва,^{а,б} И. С. Ершов,^{а,б} Д. В. Антоненко,^б
М. А. Скрыльникова,^{а,б} А. В. Храмчихин,^б Е. Н. Чернова,^а А. Ю. Гришина,^б Н. А. Анисимова,^б
С. М. Напалкова,^б О. В. Буюклинская,^б В. С. Мажай,^б Ю. Н. Павлюкова,^б Р. Е. Трифонов^б

^аСанкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
Российская Федерация, 199178 Санкт-Петербург, 14-я линия В.О., 39.

E-mail: va_ostrovskii@mail.ru

^бСанкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
Российская Федерация, 190013 Санкт-Петербург, Московский просп., 24–26/49

^бСанкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
Российская Федерация, 197022 Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

Синтезированы неаннелированные тетразолсодержащие полиядерные соединения, в которых гетероциклические фрагменты соединены с помощью линкера — ацетамидной группы. Синтез осуществлен ацилированием общим ключевым реагентом — хлорангидридом (5-фенилтетразол-2-ил)уксусной кислоты — 2-гидразинил-4,6-диметилпиримидина, 4-амино-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиола, 2-[(1-амино-1*H*-тетразол-5-ил)тио]-*N*-трет-бутилацетамида, 1-метил-1*H*-тетразол-5-амина и 2-метил-2*H*-тетразол-5-амина. Для *N'*-(4,6-диметилпиримидин-2-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетогидразида в соответствии с данными предварительного изучения *in silico* обнаружена *in vivo* противодиабетическая (диабет второго типа) активность. *N*-(3-Меркапто-4*H*-1,2,4-триазол-4-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамид в процессе исследований *in vivo* продемонстрировал минимальную гипогликемическую активность, но в то же время проявил выраженную активность как препарат для борьбы с ожирением.

Ключевые слова: хлорангидрид (5-фенилтетразол-2-ил)уксусной кислоты, ацилирование, синтез, неаннелированные гетероциклические соединения, биологическая активность, диабет, постдиабетические расстройства.

Одним из важных направлений медицинской химии является поиск и исследование биологической активности тетразолсодержащих неаннелированных полиядерных («гибридных») соединений, в которых тетразольный цикл соединен линкерной группой с другим, как минимум одним, гетероциклическим фрагментом^{1,2}. Современная стратегия получения перспективных активных ингредиентов лекарственных средств основывается на разработке рациональных схем синтеза целевых продуктов с использованием минимального числа химических стадий³. Мы предположили, что ключевым реагентом для синтеза таких соединений может служить хлорангидрид (5-фенилтетразол-2-ил)уксусной кислоты (**1**). Ранее⁴ было показано, что ацилирование карбоциклических и гетероциклических аминов хлорангидридом **1** проходит гладко и по-

зволяет получать соответствующие амиды с хорошими выходами. Важно, что в отличие от сложного эфира (5-фенилтетразол-2-ил)уксусной кислоты, ацилирование хлорангидридом **1** проходит эффективно даже в случае малоосновных аминов^{4–6}. При разработке рациональных методов синтеза тетразолсодержащих полиядерных соединений применение хлорангидрида **1** может позволить решить сразу несколько задач: введение тетразольного цикла при конструировании молекул и синтезе лекарственных кандидатов¹, а также линкера, связывающего тетразольный цикл с другими гетероциклическими фрагментами гибридной молекулы, в качестве которого выступает ацетамидная группа^{4–6}. Как показано нами ранее⁷, перспективными субстратами ацилирования хлорангидридом **1** являются 2-гидразинпроизводные пиримидина и 4,6-диметилпиримидина. Продукты ацилирования данных гетероциклических суб-

* Посвящается академику Российской академии наук О. Н. Чупахину в связи с его 90-летием.

стратов проявили выраженную противовирусную активность⁷.

Однако не менее интересными и перспективными субстратами ацилирования могут быть *N*-аминопроизводные 1,2,4-триазолов⁸, *N*-амино- и *C*-аминопроизводные тетразолов^{1,9}.

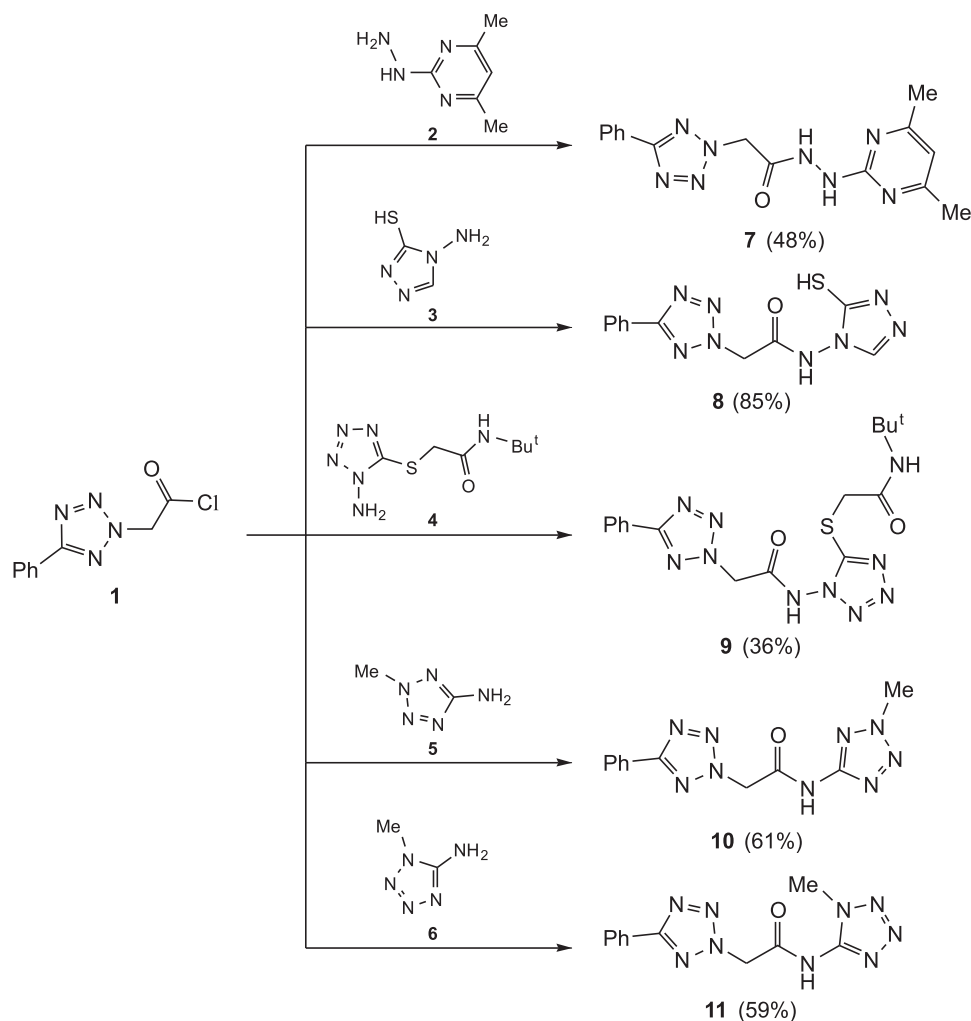
Обсуждение полученных результатов

В настоящей работе путем ацилирования хлорангидридом **1** 2-гидразинил-4,6-диметилпиримидина (**2**), 4-амино-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиола (**3**), 2-[(1-амино-1*H*-тетразол-5-ил)тио]-*N*-трет-бутилацетамида (**4**), 2-метил-2*H*-тетразол-5-амина (**5**) и 1-метил-1*H*-тетразол-5-амина (**6**) синтезированы целевые продукты **7–11** (схема 1).

N'-(4,6-Диметилпиримидин-2-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетогидразид (**7**) получен по описанной ранее методике⁷, *N*-(3-меркапто-4*H*-1,2,4-триазол-4-ил)-2-(5-фенил-

2*H*-тетразол-2-ил)ацетамид (**8**), *N*-трет-бутил-2-({1-[2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамидо]-1*H*-тетразол-5-ил}тио)ацетамид (**9**), *N*-(2-метил-2*H*-тетразол-5-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамид (**10**) и *N*-(1-метил-1*H*-тетразол-5-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамид (**11**) синтезированы нами впервые. Соединения **7**, **8**, **10** и **11** получены с хорошими выходами (48–85%). Относительно низкий выход соединения **9** (36%) может быть обусловлен снижением скорости основной реакции — нуклеофильного замещения атома галогена — за счет стерических препятствий, создаваемых объемным заместителем у атома серы в положении 5 тетразольного цикла в соединении **4**. Действительно, в процессе синтеза соединения **9** при проведении ТСХ реакционной массы зафиксировано появление пятна (5-фенилтетразол-2-ил)уксусной кислоты (R_f 0.32, система CHCl_3 — MeOH (85 : 15 по объему) + 1 капля AcOH). Данное соединение образуется в реакционной

Схема 1



Реагенты и условия: Et_3N , MeCN , кипячение, 4 ч.

смеси в результате гидролиза хлорангидрида **1**, конкурирующего с основным процессом ацилирования субстрата **4**. Принимая во внимание наличие в соединении **3** двух экзоциклических нуклеофильных центров, можно было ожидать формирования двух продуктов ацилирования: как по атому азота аминогруппы, так и по атому серы тиольной группы. В условиях эксперимента (см. схему 1) наблюдалось образование продукта ацилирования только по аминогруппе, что согласуется с данными работы¹⁰.

Как известно, тетразольный цикл представляет собой метаболитически стабильный, биоизостерный аналог *цис*-амидной и карбоксильной групп¹¹. Важнейшую роль в дизайне соединений, обладающих потенциальной биологической активностью, играют функциональные группы, способные к нековалентным взаимодействиям с рецепторами живых систем¹². Показано, что тетразолы, являясь слабыми основаниями, тем не менее проявляют способность к эффективному образованию водородной связи с участием как «пиридиновых», так и «пиррольных» атомов азота кольца¹³.

Исследование биологической активности *in silico*. Предваряя тестирование *in vivo*, мы провели компьютерный прогноз биологической активности тетразолсодержащих неаннелированных полиядерных гетероциклических соединений **7–11**. На первом этапе исследования *in silico* оценили вероятность проявления различных видов активности при помощи программы PASS Online 2022 (<https://www.way2drug.com/all/>)^{14–16}.

Для соединений **9–11** значения вероятности наличия противодиабетической активности являются умеренными ($P_a \approx 0.400–0.500$), но при этом обуславливают перспективность соединений **9–11** для их проверки на противовирусную активность. Для соединений **7** и **8** получены значения P_a , указывающие на высокую вероятность проявления свойств ингибитора альфа-глюкозидазы: $P_a = 0.751$ и 0.757 соответственно. Эти данные свидетельствуют о возможности проявления активности против диабета второго типа. Сахарный диабет второго типа (T2DM) — неизлечимое заболевание, характеризующееся нарушением обмена веществ и сопровождающееся гипергликемией, а также развитием ряда опасных заболеваний: гипертонии, тромбозов, нейродегенеративных расстройств и прочих осложнений¹⁷. Предпринятый нами анализ библиографии показал, что в ряду производных тетразола и родственных гетероциклов могут быть найдены соединения, весьма эффективные в схемах лечения диабета второго типа^{18,19}.

В связи с этим мы на основании представленного выше прогноза (PASS) провели молекулярный докинг, а также исследования *in vivo* противодиабетической активности соединений **7** и **8**.

Высокопроизводительный виртуальный скрининг на основе молекулярного докинга — метод молекулярного моделирования, позволяющего позиционировать низкомолекулярное вещество (лиганд) в активном центре фермента (белка-мишени) и оценивать свободную энергию связывания белка-мишени с этим лигандом. Чем больше (по модулю) значение такой энергии, тем прочнее лиганд связывается в активном центре белка-мишени, а значит, потенциально сильнее воздействует на фермент. В настоящее время одной из самых используемых в научном сообществе программ докинга является AutoDock Vina. В качестве выходной информации программа AutoDock Vina предоставляет значение энергии взаимодействия (свободного связывания) лиганда с рецептором — «docking score» (оценочная функция). Удовлетворительным результатом в данном случае следует принимать значения, лежащие в интервале от -6 ккал·моль⁻¹ и более по модулю^{20,21}.

В роли белка-мишени нами был выбран представитель группы PPAR- γ . Рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором гамма (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR- γ или PPARG), является популярной мишенью при прогнозировании противодиабетической активности²². Мы провели докинг-анализ позиционирования молекул **7** и **8** в активном центре фермента (белка-мишени) PPAR- γ (код AutoDock Vina sc-PDB 1i7i). Как видно из рисунка 1, *a*, для молекулы **7** возможны эффективные нековалентные взаимодействия с участием гетероциклических фрагментов (тетразолил, 4,6-диметилпиримидинил) и активного сайта фермента¹¹. Аналогичный вывод можно сделать при визуальном анализе позиционирования молекулы **8** в активном центре этого же фермента (рис. 1, *b*). Эти данные подтверждают достаточно высокие (по модулю) значения энергий нековалентного связывания (скоринг) с активным центром PPAR- γ . Для соединения **7** получено высокое значение энергии связывания (-8.8 ккал·моль⁻¹) (см. рис. 1, *a*), для соединения **8** оно меньше (-7.8 ккал·моль⁻¹) (см. рис. 1, *b*).

Результаты *in silico* прогноза биологической активности дали нам основание рекомендовать соединения **7** и **8** к исследованию *in vivo* противодиабетической активности.

Исследования биологической активности *in vivo*. Существующие научные данные и утвержденные

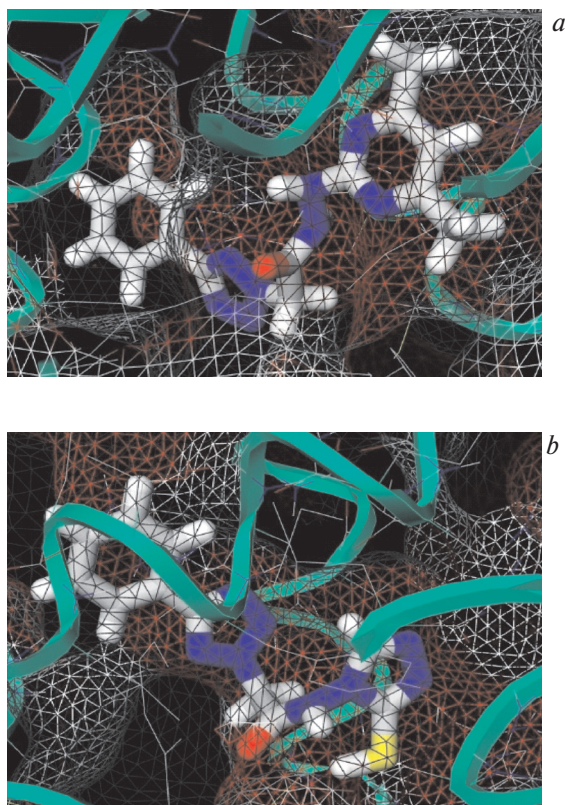


Рис. 1. Позиционирование лигандов — молекул **7** (a) и **8** (b) — в активном сайте PPAR- γ (код sc-PDB 1i7i) (докинг), модель макромолекулы биологической мишени; энергия связывания -8.8 и -7.8 ккал·моль $^{-1}$ соответственно.

рекомендации не предоставляют приемлемых *in vitro* альтернатив к использованию лабораторных животных в качестве тест-системы в настоящей работе²³. Исследование *in vivo* противодиабетической активности проводили на крысах (соединение **7**) и мышах (соединение **8**). Для крыс применяли модель адреналиновой гипергликемии²⁴.

Результаты эксперимента *in vivo* для соединения **7** на модели адреналиновой гипергликемии у крыс представлены в таблице 1.

Результаты биохимического анализа крови у мышей после введения метморфина или соединения **8** в течение 14 суток демонстрируют минимальную гипогликемическую активность (табл. 2).

Таблица 1. Изменение уровня глюкозы в крови с течением времени после инъекции адреналина ($t = 0-3$ ч) у крыс

Группа животных	Концентрация глюкозы в крови (ммоль·л $^{-1}$) при различных t			
	0	1	2	3
Контроль	6.32±0.37	13.44±1.76*	16.42±2.02*	20.36±3.73*
Метформин (300 мг·кг $^{-1}$)	6.52±0.49	7.20±1.65*	8.60±2.40*	6.90±1.07*
7 (100 мг·кг $^{-1}$)	5.56±0.34	7.78±2.46*	8.00±2.25*	8.92±1.78*

* Значение p в сравнении с контрольной группой ($p < 0.01$).

Таблица 2. Результаты биохимического анализа крови у мышей

Группа животных	Концентрация глюкозы в крови/ммоль·л $^{-1}$
Контроль	41.32±2.50
Метформин (300 мг·кг $^{-1}$)	28.93±1.75*
8 (100 мг·кг $^{-1}$)	35.83±2.56

* Значение p в сравнении с контрольной группой ($p < 0.01$).

В ходе импедансометрического анализа установлены сопоставимые результаты для группы, получавшей соединение **8**, и группы референтного препарата. Содержание жировой ткани в организме животных обеих групп различалось: 49.40 ± 2.95 г у мышей контрольной группы и 40.26 ± 2.34 ($p = 0.0379$) у мышей, получавших соединение **8** (рис. 2).

Данный феномен требует дальнейшего изучения, предполагается продолжить исследования с переориентацией с сахарного диабета второго типа на ожирение по данной субстанции. Интерес представляет тот факт, что, по-видимому, эффективность при ожирении не связана с гипогликемическим эффектом, в отличие от сенситайзера метморфина.

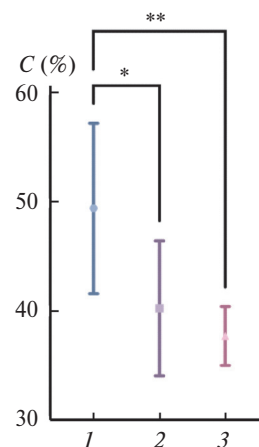


Рис. 2. Конечные значения процентного содержания жира (C) животных: контроль (1), соединение **8** (100 мг·кг $^{-1}$) (2), метформин (300 мг·кг $^{-1}$) (3); значения порога статистической значимости (p): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Таким образом, разработан рациональный и унифицированный метод синтеза тетразолсодержащих полиядерных гетероциклических систем как перспективных соединений-платформ для конструирования, синтеза и скрининга в области противодиабетической биологической активности соединений, в том числе с возможным мультитаргетным действием.

Экспериментальная часть

ИК-спектры регистрировали на приборе «Shimadzu 8400-FTIR» в таблетках с KBr, спектры ЯМР ^1H и ^{13}C — на спектрометре «Bruker Avance III» (^1H , 400 МГц; ^{13}C , 100 МГц) в ДМСО- d_6 при 25 °С, в качестве внутреннего стандарта использовали остаточные сигналы растворителя ДМСО- d_6 (δ_{H} 2.50 м.д., δ_{C} 39.51 м.д.). Масс-спектры получали на квадрупольном времяпролетном масс-спектрометре сверхвысокого разрешения «Bruker maXis impact» (ионизация электрораспылением, растворитель — MeOH). Температуры плавления определяли на приборе «Büchi M-560» со скоростью нагрева 1 °С·мин $^{-1}$ в интервале плавления. Контроль за индивидуальностью полученных соединений осуществляли методом ТСХ на пластинах «Macherey-Nagel Alugram Xtra SIL G», проявление в УФ-свете (254 нм).

Хлорангидрид (5-фенилтетразол-2-ил)уксусной кислоты (**1**), 2-гидразинил-4,6-диметилпиримидин (**2**), 4-амино-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиол (**3**), 2-метил-2*H*-тетразол-5-амин (**5**), 1-метил-1*H*-тетразол-5-амин (**6**) и *N'*-(4,6-диметилпиримидин-2-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетогидразид (**7**) получали и очищали, как описано ранее^{7,25,26}. Физико-химические свойства синтезированных соединений **1—3** и **5—7** согласуются с данными литературы. Ввиду высокой гигроскопичности хлорангидрида **1** обязательным условием является его хранение над P₂O₅ в пистолетной сушилке под вакуумом.

2-[(1-Амино-1*H*-тетразол-5-ил)тио]-*N*-трет-бутилацетамид (4**).** К 40 мл ацетонитрила добавили 1.0 г (6.7 ммоль) *N*-трет-бутил-2-хлорацетамида и 0.93 г (6.7 ммоль) 1-амино-1*H*-тетразол-5-тиолатата натрия. Реакционную массу перемешивали в течение 2 ч. Затем растворитель отогнали на роторном испарителе при пониженном давлении, к остатку добавили 50 мл воды, перемешивали 15 мин, осадок отфильтровали. Полученное вещество перекристаллизовали из водного этанола, т.пл. 188—190 °С, R_f 0.38 (CHCl₃—MeOH (90 : 10, об.), 24 °С). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.): 7.93 (с, 1 H, NH); 6.96 (с, 2 H, NH₂); 3.98 (с, 2 H, S—CH₂); 1.24 (с, 9 H, Me). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 165.48 (C=O), 154.03 (C—N₄), 50.61 (CH₂), 36.32 (CMe₃), 28.33 (Me). ИК-спектр, ν/cm^{-1} : 3321, 3197 (NH₂), 3085, 2935, 2885 (C—H), 1662 (C=O), 1550, 1458, 1272, 1218, 1103, 983 (CN₄). Масс-спектр, най-

дено m/z 231.1025 [M + H]⁺, вычислено для C₇H₁₅N₆O S 231.1023.

Синтез соединений 8—11 (общая методика). К раствору 1.0 г (4.5 ммоль) хлорангидрида **1** в 50 мл ацетонитрила при перемешивании добавляли 4 ммоль амина **3—6**. Реакционную массу охлаждали до 0—5 °С и добавляли по каплям 0.4 г (4.0 ммоль) триэтиламина, затем кипятили с обратным холодильником в течение 4 ч. За ходом реакции следили с помощью ТСХ (CHCl₃—MeOH (95 : 5, об.)). После охлаждения смеси до комнатной температуры растворитель отгоняли при пониженном давлении на роторном испарителе, остаток промывали водой (3×20 мл) и перекристаллизовывали из водного этанола.

***N*-(3-Меркапто-4*H*-1,2,4-триазол-4-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамид (**8**).** Выход 0.56 г (85%), т.пл. 272 °С (с разл.), R_f 0.32 (CHCl₃—MeOH (95 : 5, об.)). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.): 14.01 (с, 1 H, SH); 12.14 (с, 1 H, NH); 8.67 (с, 1 H, CH); 8.10—8.08 (м, 2 H, CH_{Ph}); 7.59—7.57 (м, 3 H, CH_{Ph}); 5.88 (с, 2 H, CH₂). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 166.89, 164.86, 164.74, 142.96, 131.25, 129.83, 127.08, 126.88, 53.78 (CH₂). ИК-спектр, ν/cm^{-1} : 3150 (NH), 1737 (C=O), 1280, 1180, 1072, 1044, 1026 (CN₄), 1326 (Me), 1610, 1733, 665 (Ph), 553 (C—S). Масс-спектр, найдено m/z 325.0591 [M + Na]⁺, вычислено для C₁₁H₁₀N₈NaO S 325.0593.

***N*-трет-Бутил-2-({1-[2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамидо]-1*H*-тетразол-5-ил}тио)ацетамид (**9**).** Выход 0.15 г (36%), бесцветные кристаллы, т.пл. 168—169 °С, R_f 0.82 (CHCl₃—MeOH (95 : 5, об.)). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.): 13.21 (с, 1 H, NH); 8.10—8.08 (м, 2 H, CH_{Ph}); 7.98 (с, 1 H, NH); 7.59—7.56 (м, 3 H, CH_{Ph}); 6.08 (с, 2 H, CH₂); 4.12 (с, 2 H, N(2)—CH₂); 1.25 (с, 9 H, Me). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 165.34 (C=O), 156.01 (C—HS), 164.97, 164.84 (CN₄), 131.25, 129.80, 127.03, 126.92 (C_{Ph}), 53.80 (N(2)—CH₂), 51.19 (CH₂), 37.60 (CMe₃), 28.76 (Me). ИК-спектр, ν/cm^{-1} : 3401, 3117 (N—H), 2972, 2875 (C—H), 1649 (C=O), 1549, 1452, 1278, 1194, 1027, 965 (CN₄). Масс-спектр, найдено m/z 417.1582 [M + H]⁺, вычислено для C₁₆H₂₁N₁₀O₂S 417.1570.

***N*-(2-Метил-2*H*-тетразол-5-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамид (**10**).** Выход 0.7 г (61%), бесцветные кристаллы, т.пл. 204—207 °С, R_f 0.46 (CHCl₃—MeOH (95 : 5, об.), 24 °С). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.): 11.84 (с, 1 H, NH); 8.10—8.06 (м, 2 H, CH_{Ph}); 7.59—7.53 (м, 3 H, CH_{Ph}); 6.00 (с, 2 H, N(2)—CH₂); 3.92 (с, 3 H, Me). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 164.35 (C=O, CN₄); 149.25 (CN₄), 130.77, 129.37, 126.65, 126.40 (C_{Ph}), 54.81 (N(2)—CH₂), 34.13 (Me). ИК-спектр, ν/cm^{-1} : 3255 (N—H), 2989, 2924 (C—H), 1726 (C=O), 1573, 1450, 1288, 1110, 1073, 1026, 972 (CN₄). Масс-спектр, найдено m/z 286.1158 [M + H]⁺, вычислено для C₁₁H₁₂N₉O 286.1159.

***N*-(1-Метил-1*H*-тетразол-5-ил)-2-(5-фенил-2*H*-тетразол-2-ил)ацетамид (**11**).** Выход 0.65 г (59%), бесцветные кристаллы, т.пл. 195—199 °С, R_f 0.65 (CHCl₃—MeOH (95 : 5, об.), 24 °С). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.): 11.79 (с, 1 H, NH); 8.10—8.06 (м, 2 H, CH_{Ph}); 7.59—7.53 (м, 3 H, CH_{Ph}); 5.88 (с, 2 H, N(2)—CH₂); 4.32 (с, 3 H,

Me). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 164.31 (C=O), 162.93, 158.92 (CN₄), 130.72, 129.35, 126.73, 126.39 (C_{PH}), 54.99 (N(2)—CH₂), 39.86 (Me). ИК-спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 3255 (N—H), 2935 (C—H), 1693 (C=O), 1573, 1450, 1226, 1199, 1041, 972 (CN₄). Масс-спектр, найдено m/z 286.1156 [M + H]⁺, вычислено для C₁₁H₁₂N₉O 286.1159.

Исследование биологической активности. Для крыс использовали модель адреналиновой гипергликемии²⁴. Эксперимент выполняли на 15 белых крысах-самцах с массой тела от 139 до 254 г, рандомизированных в группы по пять особей. Предварительно определяли концентрацию глюкозы в крови натошак (ммоль·л⁻¹). Крысам опытной группы вводили тонкодисперсную водную суспензию (стабилизатор Твин-80) соединения **7** в дозе 100 мг·кг⁻¹ внутрижелудочно. В качестве референтного препарата²⁷ использовали оригинальный препарат метформина — Сиофор 500[®], серия 0821021. Животным контрольной группы вводили воду очищенную. Через 30 мин однократно вводили раствор гидрохлорида адреналина (1 мг·мл⁻¹) в дозе 1 мг·кг⁻¹ подкожно. Концентрацию глюкозы в крови повторно измеряли через 1, 2 и 3 ч после введения адреналина с помощью глюкометра «Акку-Чек Актив» («Roche Diagnostics», Швейцария) и тест-полосок. Для этого животному надрезали десну между нижних резцов и полученную кровь нанесли на тест-полоску. Результаты фиксировали и рассчитывали среднее значение на каждом временном отрезке.

Изучение гипогликемической активности соединения **8** проводили на черных мышах линии C57BL/Ks-db+/+m. Данную тест-систему можно охарактеризовать следующим образом: окрас шерсти черный; инбридинг Fn+8, генотип a, db+/+m, животные несут рецессивный ген диабета db (8-я группа сцепления, 4-я хромосома), ген db в гомозиготном состоянии вызывает диабет, сопровождается аномальным ожирением. Гликемия очень высокая, уровень утилизации глюкозы снижен, дефицита инсулина нет, самцы и самки бесплодны, рецессивный ген m-misty, осветляющий окраску маркер оппозитной хромосомы, не несущий гена db²⁸. Животные содержались в период адаптации и эксперимента по три-пять особей. Испытуемый образец вводили внутрижелудочно в течение 14 суток ежедневно в объеме 0.5 мл на одно животное. Животные контрольной группы получали воду очищенную в эквивалентных количествах. Использовали также препарат сравнения — метформин (Сиофор[®]) в дозе 300 мг·кг⁻¹, его вводили в виде суспензии. Кровь забирали из ретроорбитального синуса, после чего измеряли уровень глюкозы с помощью биохимического анализатора «ERBA XL». Дополнительно проводили биоимпедансный анализ по окончании периода лечения с помощью спектроскопического импедансометра «ImpediVET[®] BIS1» («ImpediMed Inc.», США) после предварительной наркотизации золазепамом/тилетамином (Золетил[®], «Virbac», Франция; 25 мг·кг⁻¹ внутримышечно) с ксилазином (Ксила[®], «Interchemie», Нидерланды; 10 мг·кг⁻¹ внутримышечно). Определяли массу жира

(%), выполняя для каждого животного три последовательных измерения с интервалом в 3 с при заданных параметрах: пропорция тела 1.0, плотность тела 1.05 г·см⁻³, константа гидратации 0.732, коэффициенты сопротивления $\rho_i = 1220.2$ и $\rho_e = 998.9$.²⁹ Статистический анализ полученных данных выполняли с помощью пакета программ «GraphPad Prism 8» с использованием непараметрического статистического критерия Манна—Уитни.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-13-00224, <https://rscf.ru/project/23-13-00224/>).

Соблюдение этических норм

Все животные были получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл.), содержались в условиях 12/12-часового свето-темнового режима, получали стандартный корм и питьевую воду *ad libitum*. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986), Директивой 2010/63/ EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях, Рекомендацией Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Все процедуры с животными в исследовании были одобрены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (протоколы заседания № Rats-A/Д-01/Диаб-23, № Mice-A/Д-01/Диаб-23 от 15.09.2023). Манипуляции с животными проводили согласно документам системы менеджмента качества ЦЭФ ФГБОУ ВО СПХФУ, каждый из этапов исследования регламентировала установленная СОП.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или какой-либо иной сфере.

Список литературы

1. V. A. Ostrovskii, E. A. Popova, R. E. Trifonov, in *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Eds C. F. V. Scriven, Ch. A. Ramsden, Academic Press (An imprint

- of Elsevier), Cambridge—San Diego—London—Oxford, 2017, **123**, pp. 1—62; DOI: 10.1016/bs.aihch.2016.12.003.
2. V. A. Ostrovskii, E. A. Popova, R. E. Trifonov, in *Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV*, Eds D. Black, J. Cossy, C. Stevens, Elsevier, Oxford, 2022, **6**, pp. 182—232; DOI: 10.1016/B978-0-12-818655-8.00131-1.
 3. В. А. Островский, С. Б. Мирон, Ю. Н. Павлюкова, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2023, **72**, 3037 [V. A. Ostrovskii, S. B. Miron, Yu. N. Pavlyukova, *Russ. Chem. Bull.*, 2023, **72**, 3037; DOI: 10.1007/s11172-023-4116-3].
 4. С. М. Путис, В. Ю. Зубарев, В. С. Поплавский, В. А. Островский, *Химия гетероцикл. соединений*, 2004, 997 [S. M. Putis, V. Yu. Zubarev, V. S. Poplavskii, V. A. Ostrovskii, *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2004, **40**, 854; DOI: 10.1023/B:CONC.0000044567.39872.b0].
 5. V. A. Ostrovskii, V. S. Poplavskii, V. Yu. Zubarev, G. B. Erussalimsky, *Mendeleev Commun.*, 1996, **6**, 24; DOI: 10.1070/MC1996v006n01ABEH000562.
 6. Л. И. Верещагин, О. Н. Верхозина, А. Г. Пройдаков, А. И. Смирнов, В. Н. Кижняев, *Химия гетероцикл. соединений*, 2008, 1432 [L. I. Vereshchagin, O. N. Verkhozina, A. G. Proidakov, A. I. Smirnov, V. N. Kizhnyayev, *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2008, **44**, 1158; DOI: 10.1007/s10593-008-0163-9].
 7. В. А. Островский, Г. Г. Данагулян, О. М. Нестерова, Ю. Н. Павлюкова, В. В. Толстяков, О. С. Зарубина, П. А. Слепухин, Я. Л. Есаулкова, А. А. Мuryлева, В. В. Зарубаев, Р. Е. Трифонон, *Химия гетероцикл. соединений*, 2021, **57**, 448 [V. A. Ostrovskii, G. G. Danagulyan, O. M. Nesterova, Yu. N. Pavlyukova, V. V. Tolstyakov, O. S. Zarubina, P. A. Slepukhin, Y. L. Esaulkova, A. A. Muryleva, V. V. Zarubaev, R. E. Trifonov, *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2021, **57**, 448; DOI: 10.1007/s10593-021-02922-6].
 8. T. Opsomer, W. Dehaen, in *Comprehensive Heterocyclic Chemistry IV*, Eds D. Black, J. Cossy, C. Stevens, Elsevier, Oxford, 2022, **5**, pp. 78—118; DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14854-1.
 9. D. Moderhack, *Heterocycles*, 2011, **83**, 1435; DOI: 10.3987/REV-11-693.
 10. М. М. Kamel, N. Y. Megally Abdo, *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **86**, 75; DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.08.047.
 11. Е. А. Попова, Р. Е. Трифонон, В. А. Островский, *Успехи химии*, 2019, **88**, 644 [E. A. Popova, R. E. Trifonov, V. A. Ostrovskii, *Russ. Chem. Rev.*, 2019, **88**, 644; DOI: 10.1070/RCR4864].
 12. *Нековалентные взаимодействия в дизайне и синтезе новых соединений*, под ред. А. М. Магеррамова, К. Т. Махмудова, М. Н. Ковыловича, А. Дж. Л. Помбейро, Техносфера, Москва, 2016, 624 с.
 13. М. V. Kaplanskiy, O. E. Faizullina, R. E. Trifonov, *J. Phys. Chem. A*, 2023, **127**, 5572; DOI: 10.1021/acs.jpca.3c02931.
 14. В. В. Поройков, Д. А. Филимонов, Т. А. Глоризонова, А. А. Лагунин, Д. С. Дружилловский, А. В. Рудик, Л. А. Столбов, А. В. Дмитриев, О. А. Тарасова, С. М. Иванов, П. В. Погодин, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2019, **68**, 2143 [V. V. Poroikov, D. A. Filimonov, T. A. Glorizova, A. A. Lagunin, D. S. Druzhilovskiy, A. V. Rudik, L. A. Stolbov, A. V. Dmitriev, O. A. Tarasova, S. M. Ivanov, P. V. Pogodin, *Russ. Chem. Bull.*, 2019, **68**, 2143; DOI: 10.1007/s11172-019-2683-0].
 15. Д. А. Филимонов, Д. С. Дружилловский, А. А. Лагунин, Т. А. Глоризонова, А. В. Рудик, А. В. Дмитриев, П. В. Погодин, В. В. Поройков, *Biomedical Chemistry: Research and Methods*, 2018, **1**, e00004; DOI: 10.18097/BMCRM00004.
 16. A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov, *Bioinformatics*, 2000, **16**, 747; DOI: 10.1093/bioinformatics/16.8.747.
 17. S. Chatterjee, K. Khunti, M. J. Davies, *Lancet*, 2017, **389**, 2239; DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30058-2.
 18. R. E. Trifonov, V. A. Ostrovskii, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, **24**, 17190; DOI: 10.3390/ijms242417190.
 19. В. Л. Русинон, И. М. Сапожникова, А. А. Спасов, О. Н. Чупахин, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2022, **71**, 2561 [V. L. Rusinov, I. M. Sapozhnikova, A. A. Spasov, O. N. Chupakhin, *Russ. Chem. Bull.*, 2022, **71**, 2561; DOI: 10.1007/s11172-022-3687-8].
 20. O. Trott, A. J. Olson, *J. Comput. Chem.*, 2010, **31**, 455; DOI: 10.1002/jcc.21334.
 21. В. В. Поройков, *Биомед. химия*, 2020, **66**, 30; DOI: 10.18097/PBMC20206601030 [V. V. Poroikov, *Biochemistry (Moscow), Supplement Ser. B: Biomed. Chem.*, 2020, **14**, 216; DOI: 10.1134/S1990750820030117].
 22. P. Tiwari, R. Suravajhala, S. Gupta, P. Chaturvedi, S. K. Mathur, P. S. Solanki, B. Malik, *Int. J. Comput. Biol.*, 2019, **8**, 2; DOI: 10.34040/IJCB.8.1.2019.01.
 23. *NIH Guide: Position Statement on the Use of Animals in Research*, 1993, **22**; <https://grants.nih.gov/grants/guide/notice-files/not93-071.html>.
 24. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Ч. 1, Гриф и К, Москва, 2012, 944 с.
 25. A. Ismael, J. A. Paixão, R. Fausto, M. L. S. Cristiano, *J. Mol. Struct.*, 2012, **1023**, 128; DOI: 10.1016/j.molstruc.2012.04.018.
 26. *Синтезы гетероциклических соединений. Выпуск 6*, под ред. А. Л. Мнджояна, АН СССР, Москва, 1964, 91 с.
 27. *Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом*, в журн. *Сахарный диабет*, под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова, 9-й выпуск (дополненный), Эндокринологический научный центр, Москва, 2019, **22**, 214 с.; DOI: 10.14341/DM221S1.
 28. F. Suriano, S. Vieira-Silva, G. Falony, M. Roumain, A. Raquot, R. Pelicaen, M. Régnier, N. M. Delzenne, J. Raes, G. G. Muccioli, M. Van Hul, P. D. Cani, *Microbiome*, 2021, **9**, 147; DOI: 10.1186/s40168-021-01097-8.
 29. Н. В. Демакова, М. В. Краснова, Г. А. Плиско, Е. Д. Семивеличенко, Д. Ю. Ивкин, С. В. Оковитый, *Лабораторные животные для научных исследований*, 2021, **2**, 54; DOI: 10.29296/2618723X-2021-02-07.

Поступила в редакцию 4 апреля 2024;
после доработки — 23 апреля 2024;
принята к публикации 3 мая 2024