

ЗАЛЕЖНІСТЬ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ N-АЦИЛЬНИХ ПОХІДНИХ 6-АЛКОКСИ-2-МЕТИЛ-4-МЕРКАПТОХІНОЛІНУ ВІД ПРИРОДИ ЗАМІСНИКІВ У ШОСТОМУ ПОЛОЖЕННІ ГЕТЕРОЦИКЛУ

І. Б. ЛАБЕНСЬКА¹, Г. С. ШАПОВАЛ², О. С. КРУГЛЯК², Л. О. ОМЕЛЬЯНЧИК¹,
О. А. БРАЖКО¹, М. П. ЗАВГОРОДНІЙ¹

¹Запорізький національний університет, Україна;

²Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, Київ;
e-mail: baa@mail.zsu.zp.ua

Досліджено вплив замісників у шостому положенні N-ацильних похідних 2-метил-4-меркаптохіноліну на гепатопротекторну і антиоксидантну активність. Встановлено, що алкоксипохідні виявляють виражений гепатопротекторний, антирадикальний, антиокислювальний ефект та можуть відігравати роль превентивних антиоксидантів. Введення етоксигрупи у шосте положення азогетероциклу потенціює активність. Встановлено симбатність в інтенсивності гепатопротекторної і антиоксидантної дії досліджених сполук.

Ключові слова: N-ацильні похідні 2-метил-4-меркаптохіноліну, гепатопротекторна активність, антиоксидантна активність.

Методологія пошуку та створення біологічно активних речовин базується на синтетичній модифікації структури з метою зменшення токсичності, підвищення активності та посилення селективності дії [1].

Під час лікування багатьох патологічних станів, пов'язаних із порушенням гомеостазу, увага приділяється відновленню структурно функціональних змін клітинних мембран гепато-, кардіо- та нейроцитів. Для адекватного використання біологічно активних речовин необхідно встановити імовірний механізм їхнього впливу. Патологічні мембрано-деструктивні процеси обумовлені, в першу чергу, залученням ліпідів клітинних мембран у механізм вільнорадикального окислення ліпідів (ВРОЛ), що призводить до порушень клітинного метаболізму, деструкції та загибелі клітини. Тому постає питання визначення здатності сполук блокувати ці процеси на початкових стадіях їхнього розвитку.

За результатами наших попередніх досліджень, натрієві солі (хінальдин-4-ілтіо)карбонових кислот здатні значною мірою знижувати вміст продуктів ВРОЛ і проявляти церебропротекторний та гепатопротекторний ефект [2–6].

Серед досліджених речовин, у більшості випадків, спостерігається тенденція зміни активності в залежності від природи замісника

в шостому положенні хінолінового циклу. У цьому разі найбільш виражений антиоксидантний ефект виявляють сполуки з алкоксигрупою. Це, можливо, пов'язано з їхньою більшою ліпофільністю та ймовірністю дезалкілювання алкоксигрупи з утворенням фенолятних структур в експериментальних середовищах, які, як відомо, гасять пероксидні радикали. Феноксирадикал є резонансно-стабілізованим і водночас відносно нереакційноздатною структурою, за виключенням його взаємодії з іншими пероксидними радикалами. Таким чином, вищенаведені сполуки майже не залучаються в процес ланцюгової реакції окислення і запобігають пошкодженню вільними радикалами та пероксидами клітинних і субклітинних компонентів, що забезпечує цілісність органел і перешкоджає розвитку патології [2–4]. Підтвердити або спростувати це положення можна, з нашої точки зору, шляхом порівняння ефективності дії цих сполук *in vivo* з їхньою антиоксидантною активністю, визначеною на молекулярному рівні *in vitro* [7, 8].

Метою роботи було встановлення залежності гепатопротекторної активності N-ацильних похідних хіноліну від природи замісника в шостому положенні (рис. 1) і вивчення впливу цього замісника на взаємодію досліджуваних сполук з ініціаторами стартових реакцій кисневого стресу організму, тобто на їхню антиоксидантну активність.

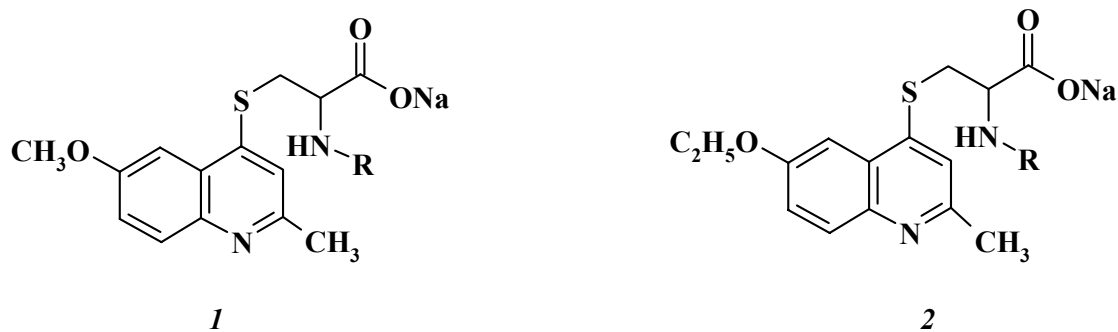


Рис. 1. R – ацильна група; 1 – сполука 1; 2 – сполука 2

Матеріали і методи

Дослідження гепатопротекторної активності проведено в зимово-весняний період на білих щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 160 ± 30 г, розведених у віварії Інституту фармакології і токсикології АМН України [9]. Виділили п'ять груп, по 10 тварин у групі. I група – інтактні тварини, яким у відповідному обсязі вводили 0,9%-й розчин NaCl внутрішньочеревно; II – V групи – тварини, яким через 60 хв після введення речовин протягом 2 днів підшкірно вводили 50%-й олійний розчин CCl_4 в дозі 0,8 мл/100 г маси тіла [10]. Тваринам III та IV груп впродовж 14 днів внутрішньочеревно вводили досліджувані сполуки з розрахунку 1/50 ЛД₅₀; тваринам V групи (еталон порівняння) – тіотриазолін (ТТЗ), вітчизняний сульфуровмісний антиоксидант та гепатопротектор із розрахунку 0,1 мг на 100 г маси тіла тварини [11].

Розвиток патології та дію досліджуваних речовин оцінювали на 2-, 7-, 14-у добу загальноприйнятими та уніфікованими біохімічними методами. Ступінь цитолізу гепатоцитів оцінювали за активністю маркерних ензимів, амінотрансфераз – АлАТ та АсАТ – у сироватці крові кінетичним методом [12].

Визначення рівня глюкози у крові необхідне для виявлення гіпоглікемічної активності досліджуваних речовин. Цей показник встановлювали глюкозооксидазним методом [14]. Ліпідний обмін аналізували за кількістю загального холестеролу та тригліцеридів, які визначали ензиматичним методом [13, 14].

Методика вивчення взаємодії досліджуваних сполук з ініціаторами реакцій кисневого стресу включає одержання у спеціальному імпульсному режимі на мідному катоді диференціальних вольтамперних кривих відновлення молекулярного кисню, на яких можна виділити хвилі відновлення самого кисню, пероксиду

водню і гідроксильних радикалів, і крім того, одержання на платиновому катоді хвилі відновлення двувалентного заліза. Висновки про антиоксидантну активність досліджуваних сполук робили за зміною морфології вольтамперних кривих [15–17].

Дослідження проводили за допомогою з'єднаного з комп'ютером полярографу ПУ-1. Потенціал мідного або платинового робочого електроду задавали відносно хлоросрібного електроду порівняння, допоміжним електродом була платинова спіраль.

Вольтамперні криві знімали в 0,1 М розчині NaCl у воді (фізіологічному розчині). Для приготування розчинів фону користувалися двічі перекристалізованим NaCl кваліфікації хч в бідистильованій воді. Розчини сполук 1 і 2 в 0,1 М NaCl готували перед проведенням вимірів. Концентрація заліза становила 2,42 мМ. Концентрація кисню в розчинах відповідала рівноважній за атмосферного тиску.

Результати та обговорення

Порушення мембранних структур сприяють патологічним змінам в органах. Особливого впливу зазнають клітини печінки за рахунок їхньої багатофункціональності. Найбільш виражений мембраностабілізуючий ефект на 2-гу добу досліджень виявила сполука 2 (54,5%). Наявність у шостому положенні метоксигрупи (сполука 1) помірно знижує активність. Відсоток змін становить 45,6%. Сполука 1 активність АсАТ знижує в 1,7 раза, сполука 2 – в 2,3 раза відносно контрольної групи тварин (таблиця).

На 7-у добу досліджень зберігалася тенденція до зниження показників АлАТ і АсАТ у разі введення сполук, що, ймовірно, реалізується за рахунок здатності їх гальмувати процеси ушкодження мембран гепатоцитів. Найвираженіший ефект виявила сполука 2,

Результати досліджень впливу сполук на мембранопротекторну функцію печінки в умовах токсичного гепатиту

Амінотрансферази	Інтактні тварини	Контроль	Сполука 1	Сполука 2	Тіотриазолін
<i>2-а доба</i>					
АлАТ, од/л	56,0 ± 4,8	360,0 ± 10,6	196 ± 10 ^{1,2}	164,0 ± 8,6 ^{1,2}	189,0 ± 8,7 ^{1,2}
% змін	—	—	45,6	54,5	52,5
АсАТ, од/л	69,0 ± 3,7	279,0 ± 10,6	168 ± 10 ^{1,2}	120,0 ± 8,8 ^{1,2}	177,0 ± 10,1 ^{1,2}
% змін	—	—	39,8	57	37,6
<i>7-а доба</i>					
АлАТ, од/л	55,0 ± 4,3	596,0 ± 12,5	242,0 ± 15,5 ^{1,2}	202,0 ± 10,4 ^{1,2}	248,0 ± 13,5 ¹
% змін	—	—	53,7	61,3	57,2
АсАТ, од/л	68,0 ± 4,4	457,0 ± 12,0	190,0 ± 13,5 ^{1,2}	124,0 ± 6,4 ^{1,2}	115,0 ± 11,4 ^{1,2}
% змін	—	—	61,2	72,0	74,0
<i>14-а доба</i>					
АлАТ, од/л	54,0 ± 7,2	347 ± 56	130,0 ± 15,5 ¹	102,0 ± 17,2 ¹	115,0 ± 9,9 ¹
% змін	—	—	60,9	70,1	64,6
АсАТ, од/л	70,0 ± 5,7	289 ± 84	140,0 ± 9,6 ¹	115,0 ± 11,0 ¹	125,0 ± 11,7 ¹
% змін	—	—	48,8	60,2	54,4

Примітка. ¹ $P < 0,05$ порівняно з контролем; ² $P < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами

яка зменшує рівень АлАТ на 61,3%, а рівень АсАТ на 72% відносно контролю ($P < 0,05$).

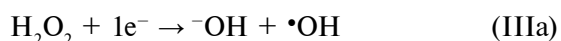
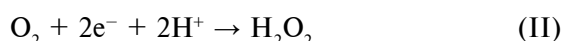
На 14-у добу досліджень одержані дані показали істотне зниження показників активності АсАТ і АлАТ, що свідчить про здатність сполук як гальмувати ушкодження гепатоцитів, так і сприяти відновленню їхньої структури. Сполука 2 знижує рівень АлАТ на 70,1%, АсАТ – на 60,2% і перевершує рівень речовини порівняння – ТТЗ [18].

Цілісність мембран гепатоцитів сприяє перебігу метаболічних процесів. Так, рівень у крові холестеролу і тригліцеролів є найважливішими показниками обміну ліпідів. Холестерол поступає в організм із їжею, але більша його частина утворюється ендогенно за рахунок синтезу в печінці [19]. Введення сполуки 2 призводить до позитивних змін рівня холестеролу та тригліцеролів порівняно з контрольною групою і наближає до показників груп інтактних тварин та ТТЗ. Показано, що сполука 1 виявляє помірну активність. Динаміка змін кількості холестеролу та тригліцеролів свідчить про відновлення процесів печінкового синтезу. Наявність етоксигрупи в шостому положенні хіноліну підсилює ефект.

Введення тваринам сполуки 2 приводить до підтримання гомеостазу глюкози крові і перевершує дію сполуки 1 (рис. 2).

Оскільки провідною ланкою патогенезу гепатиту є синдром цитолізу, який виникає у процесі ВРОЛ, для визначення тонкого механізму дії сполук 1 і 2 визначено їхній вплив на стартові реакції цього процесу. Для вивчення цієї дії використано один із перспективних підходів для проведення одночасної оцінки антиокислювальної та антирадикальної активності сполук на базі моделювання стартових окисно-відновних реакцій за участю активних інтермедіатів відновлення кисню.

Під час електрохімічного відновлення кисню на мідному електроді у спеціальному режимі на вольтамперній кривій реєстрували три хвилі, які характеризують наступні стадії процесу: відновлення гідроксильних радикалів (I) при $E = - 0,2$ В, молекулярного кисню (II) при $E = - 0,6$ В, хвиля пероксиду водню (III) при $E = - 1,1$ В. Гідроксильні радикали утворюються у процесі одноелектронного відновлення пероксиду водню (IIIа):



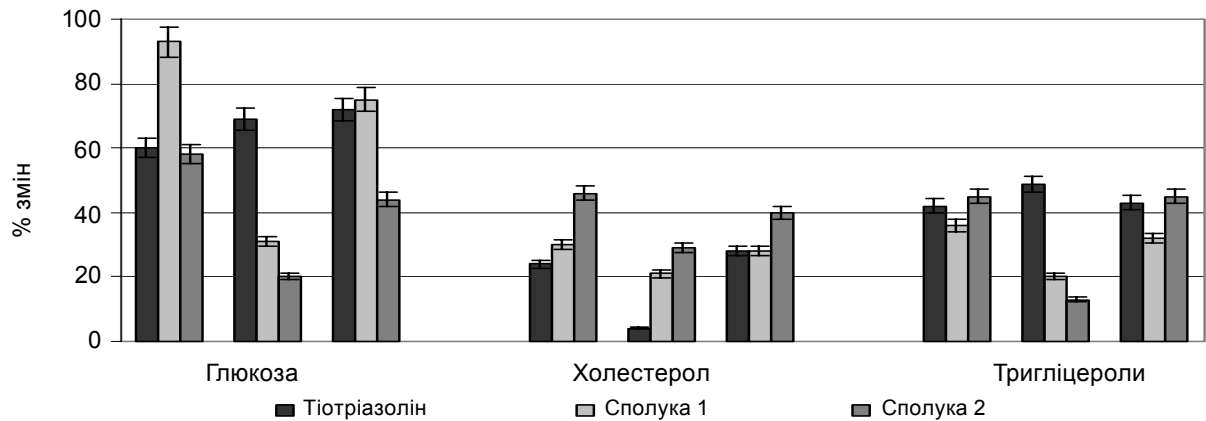


Рис. 2. Вплив досліджуваних сполук на зміни рівня глюкози, холестеролу та тригліцеролів відносно контрольної групи в умовах токсичного гепатиту на 2-, 7- та 14-у добу

Внесення у фоновий розчин досліджуваних сполук спричинює різні зміни на вольтамперних кривих відновлення кисню (рис. 3).

Так, в інтервалі концентрацій від 0,1 до 1,35 мМ спостерігається зниження хвилі відновлення гідроксильних радикалів (I) та пероксиду водню (III). При чому сполука 2 активніше знижує, ніж сполука 1. Хвиля відновлення молекулярного кисню (II) при внесенні сполук 1 і 2 мало залежить від концентрації в досліджуваному інтервалі. Максимально ефективна концентрація ~ 0,91 мМ.

Виходячи з того, що взаємодія з пероксидами характеризує антиокислювальну активність, а з гідроксильними радикалами – антирадикальну, можна дійти висновку: сполука 2 виявляє більшу антирадикальну та антиокис-

лювальну активність. Це проявляється значним зниженням I та III хвиль (рис. 3).

У реакціях одноелектронного відновлення кисню в біосистемах, як правило, бере участь іон металу змінної валентності, який виступає донором або акцептором одного електрону. Тому важливе значення має превентивна дія антиоксидантів – здатність взаємодіяти, зокрема, з іонами двувалентного заліза, які спричинюють утворення найагресивніших гідроксильних радикалів [19]. Для встановлення можливості сполук 1 і 2 виступати в ролі превентивних антиоксидантів, перевірено їхній вплив на процес відновлення двувалентного заліза на платиновому катоді.

За результатами досліджень встановлено, що обидві сполуки знижують хвилю двува-

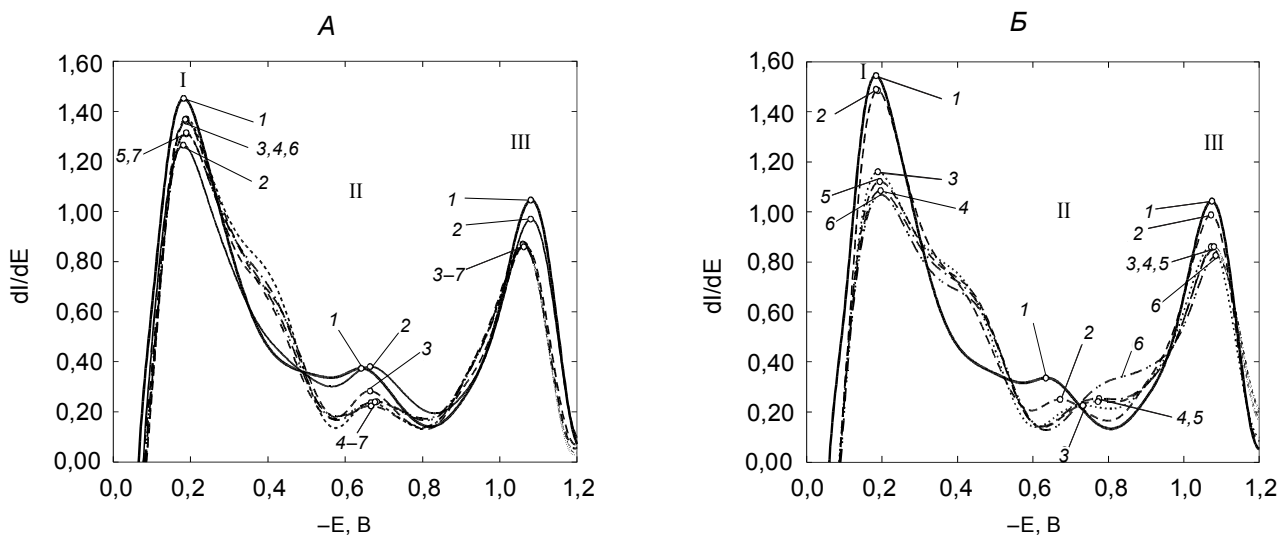


Рис. 3. Диференціальні вольтамперограми відновлення кисню на мідному електроді за різних концентрацій (2–6) сполук 1 (А) та 2 (Б): 1 – фон 0,1 М NaCl; 2 – 0,2; 3 – 0,38; 4 – 0,57; 5 – 0,74; 6 – 0,89; 7 – 0,91 мМ

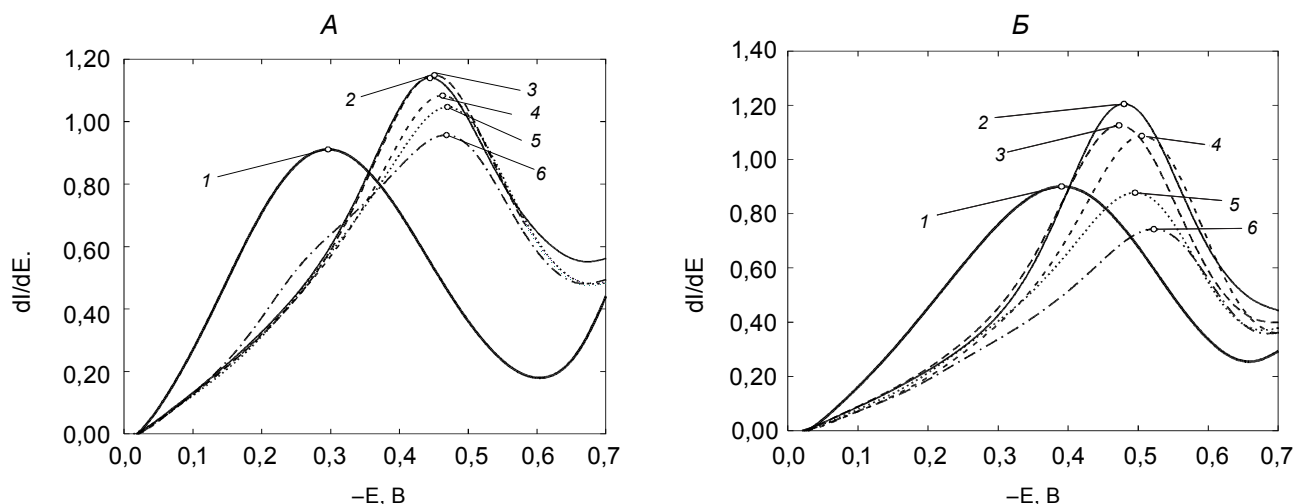


Рис. 4. Диференціальні вольтамперограми відновлення кисню на платиновому електроді на фоні $0,1 M NaCl$ у воді (1), що містить іони Fe^{2+} (2), за різних концентрацій сполук 1 (А) та 2 (Б): 3 – 0,2; 4 – 0,38; 5 – 0,57; 6 – 0,91 мМ

лентного заліза, тобто можуть бути віднесені до ряду превентивних антиоксидантів (рис. 4). Але наявність в шостому положенні хіноліну етоксигрупи (сполука 2) приводить до більш вираженого ефекту.

Отже, сполука 2 виявляє вищу антирадикальну активність за рахунок зниження рівня гідроксильних радикалів, а також виражені антиокислювальні властивості шляхом взаємодії з пероксидом водню. Крім того, обидві сполуки є активними як превентивні антиоксиданти.

В цілому, на нашу думку, гепатопротекторна активність досліджуваних сполук певною мірою пов'язана із здатністю попереджати процеси ВРОЛ та інгібувати розвиток окислювальних процесів. Наведене вище вказує на перспективність використання цих сполук як цитопротектори, особливо етоксипохідного 2.

Таким чином, встановлено, що 6-алкоксипохідні хіноліну виявляють виражену гепатопротекторну, антирадикальну та антиокислювальну активність. Знайдено симбатність в інтенсивності гепатопротекторної та антиоксидантної дії досліджуваних сполук. Показано, що введення в шосте положення хінолінового циклу етоксигрупи збільшує як гепатопротекторну, так і антиоксидантну активність 4-тіопохідних хіноліну порівняно з метоксигрупою. Встановлено на молекулярному рівні здатність досліджуваних сполук виконувати функції превентивних антиоксидантів, причому етоксипохідна сполука є ефективнішою, ніж метоксипохідна.

ЗАВИСИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ N-АЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 6-АЛКОКСИ-2-МЕТИЛ-4-МЕРКАПТОХИНОЛИНА ОТ ПРИРОДЫ ЗАМЕСТИТЕЛЕЙ В ШЕСТОМ ПОЛОЖЕНИИ ГЕТЕРОЦИКЛА

И. Б. Лабенская¹, Г. С. Шаповал²,
О. С. Кругляк², Л. А. Омелянчик¹,
А. А. Бражко¹, М. П. Завгородний¹

¹Запорожский национальный университет, Украина;

²Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, Киев;
e-mail: baa@mail.zsu.zp.ua

Исследовано влияние заместителей в шестом положении N-ацильных производных 2-метил-4-меркаптохинолина на гепатопротекторную и антиоксидантную активность. Установлено, что алкоксипроизводные оказывают выраженный гепатопротекторный, антирадикальный, антиокислительный эффект и способны выступать в роли превентивных антиоксидантов. Введение етоксигруппы в шестое положение азогетероцикла потенцирует активность. Установлена симбатность в интенсивности гепатопротекторного и антиоксидантного действия исследованных соединений.

Ключевые слова: N-ацильные производные 2-метил-4-меркаптохинолина, гепатопротекторная активность, антиоксидантная активность.

DEPENDENCE OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF N-ACYL DERIVATES OF 6-ALKOXY-2-METHYL-4-MERCAPTOQUINOLINE ON THE NATURE OF SUBSTITUENTS IN THE POSITION 6 OF THE HETEROCYCLE

*I. B. Labenska¹, G. A. Shapoval²,
O. S. Kruglyak², L. A. Omeljanchik¹,
O. A. Brazhko¹, M. P. Zavgorodny¹*

¹Zaporizhia State University, Ukraine;

²Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: baa@mail.zsu.zp.ua

S u m m a r y

The influence of substituents in the sixth position of N-acyl derivatives of 2-methyl-4-mercaptoquinoline on hepatoprotective and antioxidant effect was investigated. It was also determined that alkoxy-derivatives show hepatoprotective, antiradical, antioxidant activity and can act as preventive antioxidants. Introduction of the ethoxy-group into the sixth position of azoheterocycle potentiates activity. Symbasis of intensities of hepatoprotective and antioxidant actions of the investigated compounds was proved.

Key words: N-acyl derivatives of 2-methyl-4-mercaptoquinoline, hepatoprotective activity, antioxidant activity.

1. *Общая токсикология / Под ред. Б. А. Курляндского, В. А. Филова. — М.: Медицина, 2002. — 608 с.*
2. *Громова В. П., Омелянчик Л. О., Бражко О. А. та ін. // Укр. біохім. журн. — 2005. — 77, № 3. — С. 87–95.*
3. *Бражко О. А. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами. Автореф. дис ... д-ра біол. наук. — Запоріжжя, 2005. — 42 с.*
4. *Завгородній М. П. Біологічна активність нових тіопохідних хіноліну. Автореф. дис ... канд. біол. наук. — Запоріжжя, 2004. — 18 с.*
5. *Лабенська І. Б., Омелянчик Л. О., Гаврюшенко Н. В. та ін. // Вісник ЗНУ. — 2005. — № 1. — С. 113–119.*
6. *Завгородній М. П., Бленічев І. Ф., Омелянчик Л. О. та ін. // Питання біоіндикації та екології. — 2004. — Випуск 9, № 2. — С. 149–157.*
7. *Zeng J., Davies M. J. // Chem. Res. Toxicol. — 2006. — 19, N 12. — P. 1668–1676.*
8. *Zhang N., Wu B., Frank B. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. — 2009. — 19, N 17. — P. 5071–5074.*
9. *Кожмякін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А. та ін. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. — К., 2002. — 155 с.*
10. *Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації) / наук. ред. О. В. Стефанов. — К., 2001. — 528 с.*
11. *Мазур І. А., Волошин Н. А., Чекман І. С. и др. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение. — Запорожье, 2005. — 160 с.*
12. *Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / наук. ред. В. В. Меньшиков. — М.: Медицина, 1987. — 360 с.*
13. *Fossati P., Prencipe L. // Clin. Chem. — 1982. — N 28. — P. 2077–2080.*
14. *Allain C. C., Poon L. S., Chan C. et al. // Ibid. — 1974. — N 20. — P. 470–475.*
15. *Громова В. Ф., Шаповал Г. С., Луйк А. И. // Хим.-фарм. журн. — 1994. — № 11. — С. 11–14.*
16. *Громова В. Ф., Шаповал Г. С., Кухарь В. П. и др. // Доповіди НАНУ. — 1995. — № 3. — С. 92–94.*
17. *Патент 40767 UA, МПК G 01 №21/00. Спосіб визначення антиоксидантної активності біологічно активних сполук (БАС) / Шаповал Г. С., Громова В. П. — Опубл. 27.04.2009. — Бюл. № 8.*
18. *Патент 44791 UA, МПК C07D 215/00. Динатрієва сіль N-сукциноіл-S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну, що проявляє гепатопротективну активність / Лабенська І. Б., Бражко О. А., Омелянчик Л. О. та ін. — Опубл. 12.10.2009. — Бюл. № 19.*
19. *Барабой В. А. Биоантиоксиданты. — К.: Книга плюс. — 2006. — 460 с.*

Отримано 08.04.2010