

ВИВЧЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ S-ЗАМІЩЕНИХ 2-МЕТИЛ-4-МЕРКАПТО- 8-МЕТОКСИХІНОЛІНУ У ДОСЛІДАХ *IN VITRO*

Генчева В.І.

Запорізький національний університет

Исследована антиоксидатная активность S-замещенных 2-метил-4-меркапто-8-метоксихинолина на модели аутоокисления адреналина. Установлена зависимость «химическая структура – биологическое действие», которая зависит от длины карбоновой цепи в 4-м положении хинолинового цикла, наличия amino-, N-ацетильных, гидроксигрупп.

S-замещенные 2-метил-4-меркапто-8-метоксихинолина, антирадикальная активность, модель аутоокисления адреналина, зависимость «структура – действие»

ВСТУП

Все більшої актуальності набувають такі поняття як оксидативний стрес, вільні радикали, антиоксидантний захист.

В умовах сучасного світу, коли людині постійно доводиться стикатися з негативним впливом величезної кількості агресивних факторів зовнішнього середовища (забруднення довкілля, незбалансоване харчування, постійні стреси, нездоровий спосіб життя тощо), ризик розвитку оксидантного стресу, є дуже великий. Оксидантний стрес обумовлений утворенням надлишку радикалів кисню (активні форми кисню) [1, 4].

Активізація вільнорадикальних ліпідів є провідним механізмом дії багатьох несприятливих чинників та хімічних агентів [18], тому необхідно використовувати препарати, які здатні протистояти окисному стресу, а також засоби для профілактики і лікування можливих патологічних ефектів [11]. До таких засобів належать антиоксиданти, які приваблюють експериментаторів та клініцистів усіх галузей медицини [5]. Антиоксиданти підтримують на необхідному рівні баланс «вільнорадикальне окиснення – антиоксиданти», що дозволяє контролювати інтенсивність вільнорадикального окиснення та запобігати накопиченню в організмі його токсичних продуктів.

Відомо, що гетероциклічна система хіноліну є основою багатьох синтетичних і природних лікарських засобів [10].

Дослідженнями останніх років виявлені антиоксидантні властивості тіопохідних хіноліну, які є пастками вільних радикалів. Антиоксидантна активність реалізується за рахунок їх здатності виконувати роль «пасток» активних форм кисню і тим самим впливати на процеси вільнорадикального окиснення ліпідів (ВРОЛ) [2, 3, 6–8, 12–16].

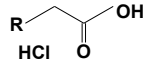
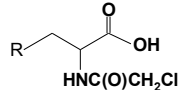
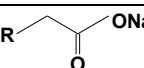
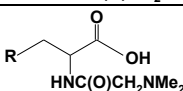
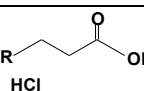
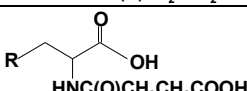
Метою роботи було визначення антирадикальної активності S-заміщених 2-метил-4-меркапто-8-метоксихіноліну, синтезованих у лабораторії біотехнології фізіологічно активних речовин Запорізького національного університету та встановлення залежності «хімічна структура – біологічна дія».

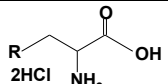
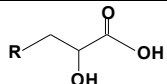
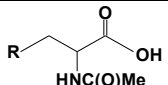
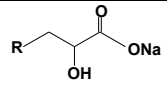
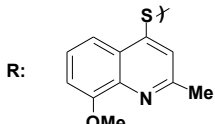
УМОВИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами дослідження були S-заміщені 2-метил-4-меркапто-8-метоксихіноліну (табл. 1).

Дослідження антирадикальної активності синтезованих сполук проводили на моделі аутоокислення адреналіну [17]. У роботі використовували 0,1%-вий розчин адреналіну, 0,2 М бікарбонатний буфер (рН = 10,65). Розчини готували на бідистильованій воді.

Таблиця 1 – Хімічна структура S-заміщених похідних хіноліну

№	Сполука	№	Сполука
1		6	
2		7	
3		8	

4		9	
5		10	
			

Контрольні проби містили 0,1 мл дистильованої води, 2 мл 0,2 М бікарбонатного буферу, 0,1%-вий розчин адреналіну солянокислого); дослідні проби містили 0,1 мл розчину речовини, 2 мл 0,2 М бікарбонатного буферу, 0,1%-вий розчин адреналіну солянокислого). Дослідження проводили в один і той же день і за однакових умов (температура 36–37 °С). Концентрація речовини в розчині складала відповідно 25,5 мкмоль/мл.

Величину оптичної щільності розчинів реєстрували на спектрофотометрі СФ–46 при довжині хвилі 347 нм через кожні 15 або 30 секунд упродовж 3–5 хв. Як еталон порівняння використовували L-ацетилцистеїн (L-АЦЦ).

Про величину антирадикальної активності S-заміщених 2-метил-4-меркапто-8-метоксихіноліну робили висновок за відсотком інгібування.

Відсоток інгібування обчислювали за формулою:

$$\text{інгібування(од.акт.)} = 1 - \frac{(D_x - D_o)}{D_x} \cdot 100\%$$

де: D_x і D_o – швидкості реакції аутоокислення адреналіну в контрольній та дослідній пробах, відповідно.

При проведенні статистичної обробки використовували формули і позначки згідно [9] і пакет комп'ютерних програм "Biostat", SPSS і MS Excell [18].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На моделі аутоокислення адреналіну (*in vitro*) визначена антирадикальна активність (АРА) (табл. 2). Препарат порівняння – L-ацетилцистеїн (L-АЦЦ).

Біологічна активність синтезованих сполук коливається в межах від 21–55 % при концентрації 25 мкмоль/мл. При концентрації 5 мкмоль/мл від 11–58 % (табл. 2).

Найбільшою антирадикальною активністю при концентрації 25 мкмоль/мл володіє натрієва сіль (8-метокси-2-метилхінолін-4-ілітіо)оцтової кислоти (сполука 2–54 %) та натрієва сіль 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілітіо)пропанової кислоти (сполука 10–55 %). Ці сполуки перевищують антиоксидантну активність препарату порівняння ацетилцистеїну на 9 та 10 % відповідно (табл. 2).

Таблиця 2 – Антирадикальна активність S-заміщених 2-метил-4-меркапто-8-метоксихіноліну

№№ сполук	ΔД (25 мкмоль/мл)	% інгібування (25 мкмоль/мл)	ΔД (5 мкмоль/мл)	% інгібування (5 мкмоль/мл)
1	2	4	3	5
1	0,180±0,008*	29	0,142±0,007*	44
2	0,117±0,005*	54	0,152±0,007*	40
3	0,193±0,009*	24	0,205±0,011*	19
4	0,200±0,009*	21	0,216±0,009*	15
5	0,190±0,009*	26	0,150±0,007*	40
6	0,152±0,007*	40	0,226±0,010*	11
7	0,150±0,007*	40	0,218±0,008*	14
8	0,191±0,010*	25	0,213±0,011*	16
9	0,127±0,006*	50	0,110±0,005*	58
10	0,110±0,005*	55	0,130±0,006*	47
L-Ацетил-цистеїн	0,140±0,007*	45	0,220±0,011*	14
Контроль	0,254±0,012	–	–	–

Примітка. * – $P < 0,05$ порівняно з контролем

За результатами проведених досліджень сполука 1 виявила невисоку АРА в порівнянні з L-АЦЦ (29 і 45 % відповідно). Наявність катіону Na^+ в карбоновому ланцюзі призводить до збільшення АРА в порівнянні зі сполукою 1 (54 і 29 % відповідно).

Подовження карбонового ланцюга на CH_2 -групу призводить до зменшення АНА (сполука 3 – гідрохлорид 3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію)пропанова кислота) на 5 % в порівнянні зі сполукою 1 (табл. 2).

Поява NH_2 -групи в карбоновому ланцюзі (сполука 4 – дигідрохлорид 2-аміно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію)пропанової кислоти) призводить до зменшення антиоксидантної активності в порівнянні зі сполукою 3 (на 21 і 24 % відповідно) (табл. 2).

Ацетилювання (сполука 5 – 2-ацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота) призводить до збільшення АРА на 5 % в порівнянні зі сполукою 4.

Ацетилювання NH_2 -групи хлорангідридом хлороцтової кислоти карбонового ланцюга в 4-му положенні хінолінового циклу також призводить до збільшення прояву АРА (сполука 6 – 2-хлорацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанової кислоти) на 14 % в порівнянні зі сполукою 5.

Сполука 7 (2-диметилацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота) проявляє АРА на рівні дії препарату порівняння L-АЦЦ (40 і 45 % відповідно) (табл. 2).

Сполука 8 – 2-ацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) сукцинат має меншу АРА в порівнянні з L-АЦЦ на 20 %.

Заміна аміногрупи на гідроксигрупу збільшує АРА (сполука 4 – дигідрохлорид 2-аміно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанової кислоти та сполука 9 – 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота) (21 і 50 % відповідно). Натрієва сіль 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію)пропанової кислоти (сполука 10) перевищує АРА 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію)пропанової кислоти на 5 % (табл. 2).

Найбільшою антирадикальною активністю при концентрації 5 мкмоль/мл володіють гідрохлорид (8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) оцтової кислоти (сполука 1), 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота (сполука 9) та натрієва сіль 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанової кислоти (сполука 10). Ці сполуки перевищують АРА препарату порівняння ацетилцистеїну на 30, 44 та 33 % відповідно (табл. 2).

Гідрохлорид (8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) оцтової кислоти (сполука 1) виявила високу АРА в порівнянні з АЦЦ (44 і 14 % відповідно). Наявність катіону Na^+ в карбоновому ланцюзі призводить до зменшення АРА на 4 % в порівнянні зі сполукою 1.

Подовження карбонового ланцюга на CH_2 -групу призводить до зменшення АРА (сполука 3 – гідрохлорид 3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію)пропанова кислота) на 25 % в порівнянні зі сполукою 1 (табл. 2).

Поява NH_2 -групи в карбоновому ланцюзі (сполука 4 – дигідрохлорид 2-аміно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанової кислоти) призводить до зменшення антиоксидантної активності в порівнянні зі сполукою 3 (19 і 15 % відповідно) (табл. 2).

Ацетилювання (сполука 5 – 2-ацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота) призводить до збільшення АРА на 25 % в порівнянні зі сполукою 4 (табл. 2).

Ацетилювання NH_2 -групи хлорангідридом хлороцтової кислоти карбонового ланцюга в 4-му положенні хінолінового циклу призводить до зменшення прояву АРА (сполука 6–2-хлорацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанової кислоти) на 29 % в порівнянні зі сполукою 5. Сполука 7 (2-диметилацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота) та сполука 8–2-ацетил-аміно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) проявляють АРА на рівні препарату порівняння L-АЦЦ (14, 16 і 14 % відповідно) (табл. 2).

Заміна аміногрупи в сполуці 4 (дигідрохлориду 2-аміно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанової кислоти) на гідроксигрупу (сполука 9 – 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію)пропанова кислота) збільшує АРА (15 і 58 % відповідно). Натрієва сіль 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанової кислоти (сполука 10) має меншу АРА ніж сполука 9 на 11 % (табл. 2).

Гідрохлорид (8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) оцтової кислоти (сполука 1), 2-ацетиламіно-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота (сполука 5) та 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтію) пропанова кислота (сполука 9) при зниженні концентрації до 5 мкмоль/мл проявили більшу антирадикальну активність, ніж при концентрації 25 мкмоль/мл. Інші сполуки при зниженні концентрації проявили меншу антирадикальну активність (табл. 2).

Таким чином, похідні хіноліну є перспективним класом сполук з антирадикальною активністю. Це дозволяє відібрати найбільш активні сполуки в даному ряді, які можуть бути використані для подальших досліджень *in vitro* та *in vivo*.

ВИСНОВКИ

1. Встановлена і проаналізована залежність «хімічна структура – біологічна дія» похідних хіноліну.
2. Виявлено, що перспективними сполуками з антирадикальною активністю при концентрації 25 мкмоль/мл є натрієва сіль (2-метил-8-метоксихінолін-4-ілтіо)оцтової кислоти (сполука 2) і натрієва сіль 2-гідрокси-(2-метил-8-метоксихінолін-4-ілтіо)пропанової кислоти (сполука 10), які перевищують препарат порівняння (L-АЦЦ) на 9–10 %.
3. Результати досліджень показали, що для сполук 1, 5, 9 при зниженні концентрації до 5 мкмоль/мл характерне підвищення антиоксидантної активності на 15, 14 та 8 % в порівнянні з концентрацією 25 мкмоль/мл. Встановлено, що при збільшенні карбонового ланцюга на CH_2 -групу, наявність NH_2 -групи призводить до зменшення антиоксидантної активності, а наявність OH -групи – до збільшення активності.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Біленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / М.В. Біленко. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
2. Бражко О.А. Пошук антиоксидантів серед похідних S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну / Бражко О.А., Омелянчик Л.О., Федоряк Д.М., Беленічев І.Ф., Завгородній М.П. // Біополімери і клітина. – 2003. – Т. 19, № 4. – С. 374–377.
3. Бражко О.А. Антиоксидантна активність 4-тіопохідних хіноліну у дослідах *in vitro* / Бражко О.А., Корнет М.М., Добродуб І.В., Омелянчик Л.О., Завгородній М.П. // Вісник Донецького національного університету. Сер. А: Природничі науки. – 2009. – Вип. 2. – С. 294–298.
4. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в живых системах / Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. // Итоги науки и техники. – М.: ВИНТИ, 1991. – Т. 29. – 252 с.
5. Горчакова Н.О. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Горчакова Н.О., Олійник С.А., Гаркава К.Г. // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 1. – С. 7–13.
6. Громова В.П. Дослідження антиоксидантної активності тіопохідних хіноліну / Громова В.П., Омелянчик Л.О., Бражко О.А., Завгородній М.П., Шаповал Г.С., Тарасюк О.П. // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 77, №3. – С. 87–95.
7. Завгородній М.П. Антиоксидантна та гепатопротекторна активність натрієвих солей похідних в-(2-метилхінолін-4-ілтіо)-молочної кислоти / Завгородній М.П., Беленічев І.Ф., Омелянчик Л.О. // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя, 2004. – Вип. 9, № 2. – С. 149–157.
8. Лабенська І.Б. Залежність біологічної активності N-ацильних похідних 6-алкокси-2-метил-4-меркаптохіноліну від природи замісників у шостому положенні гетероциклу / Лабенська І.Б., Шаповал Г.С., Кругляк О.С., Омелянчик Л.О., Бражко О.А., Завгородній М.П. // Український біохімічний журнал. – 2010. – Т. 82. – № 3. – С. 49–55.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
10. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский – М.: Новая волна, 2008. – 119 с.
11. Олійник С.А. Кореляція порушень клітинного дихання при експериментальній барбітуратній інтоксикації / Олійник С.А., Чекман І.С., Горчакова Н.О. // Гал. лікар. вісник. – 2000. – Т. 7, № 3. – С. 96–98.
12. Омелянчик Л.О. Пошук біорегуляторів з антиоксидантною дією серед S-похідних 4-меркаптохінолінів / Омелянчик Л.О., Федоряк Д.М., Бражко О.А. // *Ukrainica Bioorganica Acta*. – 2007. – № 2. – С. 17–24.
13. Пат. України 97094717, МКИ4 С 07 Д 215/04, А 61 К 31/435. 3-(2-тіохіноліл)пропанова кислота, що виявляє антиоксидантну активність / Омелянчик Л.О., Бражко О.А., Беленічев І.Ф. – 2003. – Бюлетень № 9. – 4 с.
14. Пат. України 2002063258, МКИ4 С 07 Д 215/04, А 61 К 31/435. 2-Меркапто-4-метил-7-хлорхінолін, що виявляє антиоксидантну та анальгетичну активність / Бражко О.А., Беленічев І.Ф., Івчук В.В., Варламов С.Ф. – 2003. – Бюлетень № 6. – 4 с.

15. Пат. на корисну модель 49819 Україна, МПК (2009) Генчева В.І., Бражко О.А., Омелянчик Л.О., Завгородній М.П. Натрієва сіль 2-гідрокси-3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтіо)пропанової кислоти, що має антиоксидантну, нейропротекторну активність С 07 Д 215/00, №и200912345, Заявл. 30.11.2009; Опубл. 11.05.2010. – Бюл. № 9. – 10 с.

16. Петруша Ю.Ю., Омелянчик Л.О., Завгородній М.П., Генчева В.І. Пошук біологічно активних сполук на основі S-гетерилзаміщених L-цистеїну та його аналогів // XXII Українська конференція з органічної хімії. – Ужгород, 20–25 вересня 2010. – С. 365.

17. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т.В. Сирота // Вопросы медицинской химии. – 1999. – №31. – С. 3–14.

18. Шаповал Г.С. Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активных форм кислорода / Г.С. Шаповал, В.Ф. Громова // Укр. біохім. журн. – 2003. – № 2. – С. 5–13.

19. SPPS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей / Пер. с нем. Ахим Бююль, Петер Цефель. – СПб.: ДиаСофтЮп. – 2001. – 608 с.

**THE STUDY OF ANTIRADICAL ACTIVITY OF S-SUBSTITUTED 2-METHYL-4-MERCAPTO-8-METHOXYQUINOLINE
IN THE EXPERIMENTS *IN VITRO*
Gencheva V.I.**

Today such concepts as oxidative stress, free radicals, antioxidant protection are becoming more actual.

In the modern world where people constantly have to face with the negative impact of aggressive factors of the environment (bad ecology, unbalanced nutrition, constant stress, unhealthy lifestyle, etc.), the risk of oxidative stress is very high. Oxidative stress is caused by formation of excess of oxygen free radicals (active forms of oxygen).

The activation of peroxidation of lipids is the leading mechanism of action of many adverse factors and chemical agents. Therefore it is necessary to use the preparations that are able to resist oxidative stress and the means of prophylaxis and treatment of possible pathological effects. These agents include antioxidants which attract experimenters and clinicians of all branches of medicine.

Antioxidants support the balance «free radical oxidation – antioxidants» at the right level. This allows to control the intensity of the free radical oxidation and to prevent the accumulation of toxic products in the body.

It is known that the heterocyclic quinoline system is a foundation of many synthetic and natural medicines.

The recent researches have detected antioxidant properties of S-replaced quinoline, which are traps for free radicals. Antioxidant activity is realized through on their ability to act as «traps» of active forms of oxygen and thus they influence on the processes of the free radical oxidation of lipids.

The aim of this work was to determine the antiradical activity of S-substituted 2-methyl-4-mercapto-8-methoxyquinoline synthesized in the laboratory of biotechnology of physiologically active substances of Zaporizhzhya National University and to establish the dependence «chemical structure – biological effect».

The objects of the studies were S-substituted 2-methyl-4-mercapto-8-methoxyquinoline.

The investigation of antiradical activity of the synthesized compounds was held on the model of autooxidation of epinephrine (in vitro). Were used in the work 0,1 % solution of epinephrine, 0,2 M bicarbonate buffer (pH = 10,65). The solutions were prepared with bidistilled water.

Control samples contained – 0,1 ml of distilled water, 2 ml of 0,2 M bicarbonate buffer, 0,1 % solution of epinephrine hydrochloride); the investigated samples contained – 0,1 ml of substance, 2 ml of 0,2 M bicarbonate buffer, 0,1 % solution of epinephrine hydrochloride). The researches were held the same day and the same conditions (temperature 36–37 °C). The concentration of the substance in the solution was correspondingly 25,5 mmol/ml. L-acetylcysteine (L-ACC) was used as the standard of comparing.

Biological activity of the synthesized compounds ranges between 21–55% at the concentration of 25 mmol/ml. At the concentration of the 5 mmol/ml within 11–58 %.

The dependence of «chemical structure – biological effect» was determined and analyzed.

It was discovered that the prospective compounds with antiradical activity at the concentration of 25 mmol/ml are sodium salt (2-methyl-8-methoxyquinoline-4-ylthio) acetic acid (compound 2) and sodium salt of 2-hydroxy-(2-methyl-8-methoxyquinoline-4-ylthio) propanoic acid (compound 10) that exceed the compared preparations (L-ACC) 9–10%.

The results of the research the compounds 1, 5, 9, with the decrease in the concentration to 5 mmol/ml are characterised by the increase of antioxidant activity for 15, 14, 8 %, compared to the concentration of 25 mmol/ml. It was investigated that the increase of carbon chain on CH₂ group and the presence of NH₂-groups leads to the decrease in antioxidant activity, but the presence of OH groups raises its activity.

УДК 576.32. / 36 : 615.27

Генчева В.І. Вивчення антирадикальної активності S-заміщених 2-метил-4-меркапто-8-метоксихіноліну у дослідях *in vitro* / В.І. Генчева // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2013. – Вип. 18, № 2. – С. 302–313.

Исследована антиоксидатная активность S-замещенных 2-метил-4-меркапто-8-метоксихинолина на модели аутоокисления адреналина. Установлена зависимость «химическая структура – биологическое действие», которая зависит от длины карбоновой цепи в 4-м положении хинолинового цикла, наличия amino-, N-ацетильных, гидроксигруппы.

Бібл. 18. Рис. 2.