

УДК 547.863:615.31

DOI: 10.15372/KhUR2023477

EDN: DJDPOA

Антиоксидантная активность хиноксалилгидразонов 2-гидроксиимино-1,3-дикарбонильных соединений

Д. С. АНЕНКО¹, П. С. БОБРОВ², И. Л. АБИСАЛОВА³, Г. А. СУБОЧ², Е. О. СЕРГЕЕВА³, Т. Н. ГЛИЖОВА¹¹Северо-Кавказский федеральный университет,
Ставрополь (Россия)

E-mail: anenko@gmail.com

²Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева,
Красноярск (Россия)³Пятигорский медико-фармацевтический институт –
филиал Волгоградского государственного медицинского университета,
Пятигорск (Россия)

(Поступила 24.12.22; после доработки 13.03.23)

Аннотация

Дескрипторы биоподобия и фармакокинетики были получены с использованием веб-сервисов SwissADME и ADMETlab 2.0. Анализ полученных дескрипторов показал, что, согласно правилу Липински, хиноксалилгидразоны 2-гидроксиимино-1,3-диоксо соединений могут быть перспективными кандидатами при разработке лекарственных препаратов для перорального введения. Анализ фармакокинетических дескрипторов изучаемых структур выявил, что, согласно прогнозу, соединения могут проникать через гематоэнцефалический барьер, абсорбироваться в желудочно-кишечном тракте, связываться с белками плазмы крови, быстро выводиться из целевых клеток и не подвергаться метаболическим превращениям изоферментами CYP3A4, CYP2C19 и CYP2D6. Изучена антиоксидантная активность производных хиноксалилгидразонов с различными бензоильными, сложноэфирным и ацетильным фрагментами. Фармакологический скрининг на наличие антиоксидантной активности полученных веществ проводили *in vitro* на модели Fe²⁺-индуцированного перекисного окисления липидов. Полученные данные свидетельствуют о выраженной степени ингибирования перекисного окисления липидов в системе желточных липопротеидов синтезированными соединениями, что указывает на весомый вклад хиноксалонового скелета в проявление антиоксидантных свойств. Варьирование структуры исходных 1,3-дикарбонильных соединений не привело к значительным изменениям выраженности антиоксидантной активности получаемых гидразонов. Полученные соединения могут стать перспективными веществами с выраженной антиоксидантной активностью для дальнейших исследований *in vivo*, в том числе для изучения острой и хронической токсичности. Соединением-лидером является толилзамещенный хиноксалилгидразон **IIb**.

Ключевые слова: хиноксалины, гидразоны, антиоксидантная активность, дикетоны

ВВЕДЕНИЕ

Целенаправленный синтез химических соединений с выраженной биологической и фармакологической активностью является одним из

основных направлений развития медицинской и фармацевтической химии.

Известны лекарственные препараты, производные хиноксалинов, – эхиномицин, хиноксидин и его метаболит диоксидин [1, 2], про-

являющие выраженные антибактериальные свойства.

Хиноксалилгидразоны являются доступным и перспективным классом соединений, у которых обнаружена антиоксидантная [3, 4], противоопухолевая [3, 5], противовирусная [3] и антимикробная [6, 7] активность. В работе [8] описан синтез хиноксалилгидразонов, проявляющих выраженную противопаркинсоническую активность, заключающуюся в ингибировании моноаминоксидазы типа В и антихолинэстеразы.

Столь обширный диапазон проявляемых фармакологических свойств делает актуальным целенаправленный синтез хиноксалилгидразонов и поиск среди них соединений с выраженной антиоксидантной активностью.

Поскольку окислительный стресс, вызываемый увеличенной концентрацией активных форм кислорода, приводит к нарушению работы клеточного метаболизма, его можно представить как некий универсальный патогенетический механизм клеточного повреждения при развитии большинства патологий [9]. С этой точки зрения антиоксиданты можно рассматривать как эффективные цитопротекторы, что делает их поиск и целенаправленный синтез актуальной задачей.

Цель данной работы – изучение антиоксидантной активности хиноксалилгидразонов 2-гидроксиимино-1,3-дикарбонильных соединений на модели Fe^{2+} -индуцированного перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также прогноз

их биоподобия и некоторых фармакокинетических параметров *in silico*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Прогноз *in silico*

Структуры исследуемых соединений **I**, **IIa–g** приведены на рис. 1.

Прогноз биоподобия виртуальных структур соединений **I**, **IIa–g** для определения дескрипторов биоподобия согласно правилу Липински строился с помощью сервисов SwissADME и ADMETlab 2.0, а прогноз фармакокинетических параметров – посредством веб-сервиса ADMETlab 2.0. Анализировались следующие критерии: BBB – проникновение через гематоэнцефалический барьер; HIA – проникновение через стенки желудочно-кишечного тракта; PPB – связывание с белками плазмы крови; Pgp-substrate – соединение является субстратом для Р-гликопротеина, т. е. способно выводиться из клеток посредством активного транспорта; CYP3A4, CYP1A2, CYP2C19 и CYP2D6 – субстрат для изоферментов.

Синтез

Исходные соединения для синтеза исследуемых гидразонов **IIa–g** получены в соответствии с известными методиками [10, 11].

Методики синтеза гидразонов **IIa–g**, а также их спектральные и физико-химические харак-

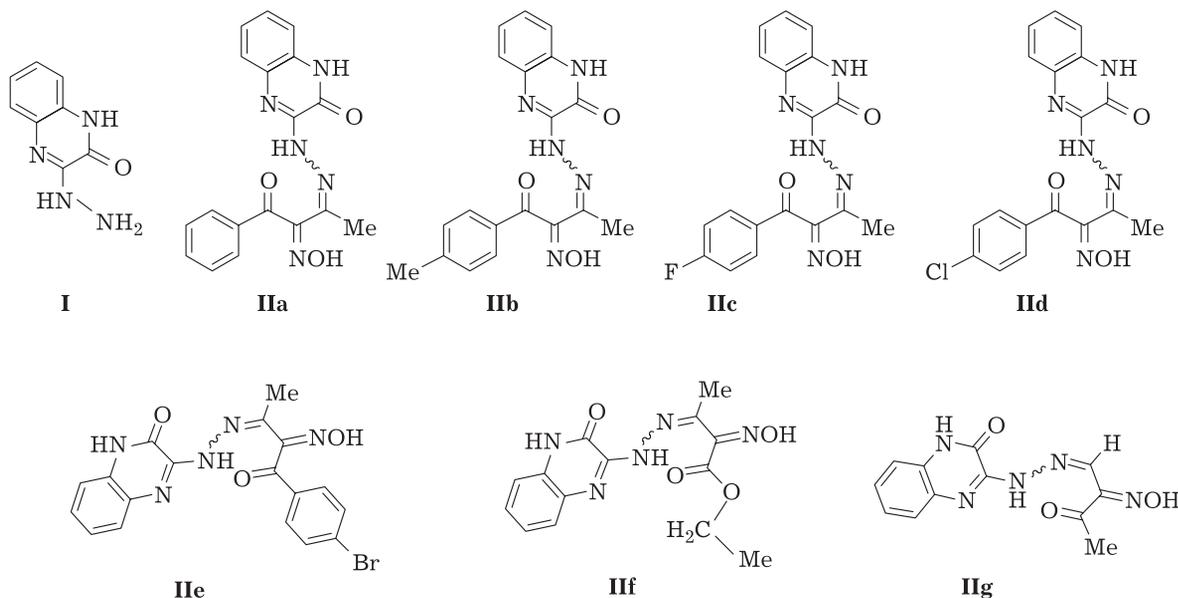


Рис. 1. Структуры исследуемых соединений **I**, **IIa–g**.

теристика приведены в нашей предыдущей работе [12].

Фармакологический скрининг на наличие антиоксидантной активности

У исследуемых соединений изучили антиоксидантное действие на модели Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ. Исследование проводили *in vitro* с применением желточных липопротеидов в качестве субстрата, в котором концентрация липидов составляла 40 мг/мл [13].

Использовалась среда для инкубации следующего состава: фосфатный буфер (pH 7.45), представляющий собой смесь из 40 мМ KH_2PO_4 и 0.5 мМ KCl; 25 мМ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, который растворяли в 0.002 М HCl. Инкубация проходила при 37 °С с применением водяной бани. Содержание продуктов ПОЛ определяли согласно [14]: в нулевое время (t_0) и через 15 мин инкубации (t) 0.5 мл суспензии переносили в пробирки с 1 мл 20 % раствора трихлоруксусной кислоты, которые находились во льду. Далее осуществляли центрифугирование в течение 15 мин при 3000 об/мин. Тиобарбитуровую кислоту (ТБК), растворенную в додецилсульфате натрия (0.5 % раствор) добавляли к надосадочной жидкости, а затем нагревали на водяной бане при 100 °С в течение 15 мин. Тест с ТБК основан на ее способности реагировать с продуктом окислительной дегградации липидов – малоновым диальдегидом (МДА). Спектр поглощения ТБК-активных продуктов измеряли с помощью спектрофотометра СФ-2000 (ЗАО “ОКБ СПЕКТР”, Россия) при 532 нм и рассчитывали количество ТБК-активных продуктов, используя коэффициент молярной экстинкции комплекса ТБК–МДА, равный $1.56 \cdot 10^5$ л/(моль · см) [15]. Опытные пробы содержали исследуемые соединения в виде растворов (в диметилсульфоксиде (ДМСО) либо этаноле) в конечной концентрации 10^{-3} моль/л.

В контрольные пробы добавляли только растворитель (ДМСО либо этанол соответственно).

Оценку эффективности антиоксидантного действия проводили по степени ингибирования интенсивности ПОЛ в системе желточных липопротеидов в опытных пробах по отношению к контрольным пробам. Рассчитывали процент снижения ПОЛ (С, %) по отношению к контрольной пробе по следующей формуле:

$$C = \frac{(K_t - K_{t_0}) - (O_t - O_{t_0})}{K_t - K_{t_0}} \cdot 100$$

где К и О – значения оптической плотности в контрольной и опытной пробах соответственно; K_{t_0} и O_{t_0} – контрольная и опытная пробы в нулевое время соответственно; K_t и O_t – контрольная и опытная пробы через 15 мин инкубации соответственно.

Референтными препаратами выступали гесперидин, феруловая кислота, кверцетин и ионол.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прогноз

Правило Липински применимо по отношению к лекарственным средствам *per os*. Согласно правилу, химические соединения могут быть перспективными для их целенаправленного синтеза и изучения биологической активности при соблюдении хотя бы трех из четырех разделов правила.

Все исследуемые соединения удовлетворяют правилу Липински, благодаря чему можно судить о целесообразности рассмотрения соединений с позиции кандидатов в лекарства *per os*.

В табл. 1 приведены фармакокинетические дескрипторы соединений **I**, **IIa–g**.

На основании полученных результатов (см. табл. 1) можно сделать следующие выводы:

ТАБЛИЦА 1

Результаты прогноза фармакокинетических дескрипторов **I**, **IIa–g**

Вещество	BBB	НИА, %	РРВ, %	Pgp-substrate	CYP3A4	CYP1A2	CYP2C19	CYP2D6
I	+	97.6	44.78	+	–	+	–	–
IIa	+	79.6	83.83	+	–	+	–	–
IIb	+	94.0	97.27	+	–	+	–	–
IIc	+	93.7	98.35	+	–	+	–	–
IId	+	96.2	98.56	+	–	+	–	–
IIe	+	95.7	99.22	+	–	+	–	–
IIf	+	95.2	99.02	+	–	+	–	–
IIg	–	94.0	73.66	+	–	+	–	–

- прогнозируется способность соединений проникать через гематоэнцефалический барьер;
- хорошая абсорбция для всех прогнозируемых структур в желудочно-кишечном тракте позволяет предсказать высокую биодоступность *per os*;
- у соединений **I**, **IIa** и **IIg** степень связывания с белками плазмы крови структур менее 90 %, что свидетельствует о хорошем распределении через системный кровоток. Следует отметить, что согласно полученным результатам прогноза, введение *n*-незамещенного ароматического фрагмента или замещенного с электронодонорными или электроноакцепторными заместителями в *n*-положении приводит к уменьшению биодоступности;
- вещества **I**, **IIa–g** являются субстратом для Р-гликопротеина и способны выводиться из клеток посредством активного транспорта. Соответственно, они не будут оставаться в целевых клетках достаточно долгое количество времени, что позволяет спрогнозировать их быстрое выведение из организма [16];
- все исследуемые соединения не являются субстратами изоферментов CYP3A4, CYP2C19 и CYP2D6, но являются субстратами изофермента CYP1A2. Соединения **I**, **IIa–g**, предположительно, не могут подвергаться метаболическому воздействию [17], так как не являются

субстратами CYP3A4, который выступает ключевым изоферментом в процессе метаболизма лекарственных веществ [18].

Анализ полученных результатов фармакологического скрининга на наличие антиоксидантной активности

Результаты фармакологического скрининга на наличие антиоксидантной активности производных хиноксалилгидразона приведены в табл. 2.

Результаты проведенных испытаний *in vitro* показали, что все образцы обладают выраженной антиоксидантной активностью. Стоит подчеркнуть, что в целом значения степени ингибирования ПОЛ у всех изучаемых веществ находятся на высоком уровне, что может указывать на весомый вклад хиноксалонового скаффолда. Варьирование структуры исходных 1,3-дикарбонильных соединений не привело к существенным изменениям антиоксидантной активности получаемых гидразонов.

Вместе с тем у соединения **IIg**, продукта конденсации **I** с 2-гидроксимино-3-оксобутаналем, снижена антиоксидантная активность по сравнению с исходным гидразинилхиноксалином **I**.

Практически у всех исследуемых образцов процент снижения ПОЛ выше 90 %, что не наблюдается даже у препаратов сравнения геспередина и феруловой кислоты.

Соединением-лидером является толилзамещенный хиноксалилгидразон **IIb**, проявивший антиоксидантную активность выше уровня референтных препаратов геспередина, феруловой кислоты ($p < 0.05$), кверцетина и “эталона” антиоксидантной активности – ионола ($p > 0.05$). Столь высокая степень выраженности антиоксидантной активности у данного вещества делает его перспективным кандидатом для дальнейших исследований *in vivo*, в том числе для изучения острой и хронической токсичности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые хиноксалиноны оказывают выраженную антиоксидантную активность на модели перекисного окисления липидов *in vitro*. Соединением-лидером является толилзамещенный хиноксалилгидразон **IIb**. Прогноз биоподобия фармакокинетических параметров и анализ полученных дескрипторов позволяет судить о перспективности дальнейших исследований полученных веществ.

ТАБЛИЦА 2

Изучение *in vitro* антиоксидантной активности соединений **I**, **IIa–g**

Соединение	% снижения ПОЛ			M±m
	1	2	3	
Контроль – этанол				
I	91.02	93.58	94.87	93.16±1.13
IIg	76.92	88.46	98.72	88.03±6.29
Контроль – ДМСО				
IIa	94.69	92.51	98.29	95.16±1.68
IIb	96.33	98.92	96.33	97.19±0.86
IIc	96.40	96.78	84.36	92.51±4.08
IId	91.66	98.77	89.95	93.46±2.70
IIE	97.06	93.55	89.38	93.33±1.73
IIf	95.43	97.70	97.70	96.94±0.75
Гесперидин	84.77	71.39	59.60	71.92±7.27
Феруловая кислота	85.30	85.96	64.65	78.64±6.70
Кверцетин	94.41	92.04	84.42	90.29±3.01
Ионол	96.23	97.04	97.24	96.83±0.31

Примечание. 1, 2, 3 – серии проб; M±m, где M – среднее арифметическое значение, m – ошибка среднего арифметического значения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования Российской Федерации (государственное задание 075-03-2023-224 “Поиск новых регио- и стереоселективных синтетических платформ, направленных на получение новых биологически активных скаффолдов для медицинской химии и разработку новых средств защиты растений и животных (FSRN-2023-0005)”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Писаренко Е. А. Фармакологическая характеристика 2,3-бис-(гидроксиметил)-хиноксалина 1,4-ди-*N*-оксида // Международ. журн. приклад. и фундам. исслед. 2014. № 3 (ч. 1). С. 100–101.
- 2 Золототрубов А. П. Химиотерапевтическая активность хиноксидина при колибактериозе и сальмонеллезе свиней: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук. Воронеж, 2000. 24 с.
- 3 El-Tombary A. A., El-Hawash S. A. M. Synthesis, antioxidant, anticancer and antiviral activities of novel quinoxaline hydrazone derivatives and their acyclic *c*-nucleosides // Med. Chem. 2014. Vol. 10, No. 5. P. 521–532.
- 4 Settypalli T., Chunduri V. R., Maddineni A. K., Begari N., Allagadda R., Kotha P., Chippada A. R. Design, synthesis, *in silico* docking studies and biological evaluation of novel quinoxaline-hydrazide hydrazone-1,2,3-triazole hybrids as α -glucosidase inhibitors, antioxidants // New J. Chem. 2019. Vol. 43, No. 38. P. 15435–15452.
- 5 Maranhão S. Sant’A., Moura A. F., Oliveira A. C. A., Lima D. J. B., Barros-Nepomuceno F. W. A., Paier C. R. K., Pinheiro A. C., Nogueira T. C. M., de Souza M. V. N., Pessoa C. Synthesis of PJOV56, a new quinoxaliny-hydrazone derivative able to induce autophagy and apoptosis in colorectal cancer cells, and related compounds // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2020. Vol. 30, No. 2. Art. 126851.
- 6 Ragab A., Elsisy D. M., Aby Ali O. A., Abusaif M. S., Askar A. A., Farag A. A., Ammar Y. A. Design, synthesis of new novel quinoxalin-2(1*H*)-one derivatives incorporating hydrazone, hydrazine, and pyrazole moieties as antimicrobial potential with *in-silico* ADME and molecular docking simulation // Arab. J. Chem. 2022. Vol. 15, No. 1. Art. 103497.
- 7 Başıyığı T. E., Acar U., Özkay Y., Karaca Gençer H., Uçucu Ü. Synthesis and antimicrobial activity of some novel quinoxaline hydrazones // Anadolu University Journal of Science and Technology – C. Life Sciences and Biotechnology. 2015. Vol. 4, No. 1. P. 31–39.
- 8 Çevik U. A., Osmaniye D., Sağlık B. N., Çavuşoğlu B. K., Levent S., Karaduman A. B., Ilgin S., Karaburun A. C., Özkay Y., Kaplancikli Z. A., Turan G. Multifunctional quinoxaline-hydrazone derivatives with acetylcholinesterase and monoamine oxidases inhibitory activities as potential agents against Alzheimer’s disease // Med. Chem. Res. 2020. Vol. 29, No. 6. P. 1000–1011.
- 9 Lushchak V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals // Aquat. Toxicol. 2011. Vol. 101, No. 1. P. 13–30.
- 10 Cheeseman G. W. H., Rafiq M. Quinoxalines and related compounds. Part VIII. The reactions of quinoxaline-2(1*H*)-ones and -2,3(1*H*,4*H*)-diones with hydrazine // J. Chem. Soc. C. 1971. P. 452–454.
- 11 Бобров П. С., Кирик С. Д., Любашкин А. В., Субоч Г. А., Товбис М. С. Особенности молекулярной упаковки 2-гидроксимино-1,3-дикетоннов методом рентгеноструктурного анализа поликристаллов // Бутлер. сообщения. 2022. Т. 71, № 9. С. 1–10.
- 12 Бобров П. С., Семиченко Е. С., Кондрасенко А. А., Субоч Г. А. Взаимодействие 3-гидразинилхиноксалин-2(1*H*)-она с 2-гидроксимино-1,3-дикарбонильными соединениями // Журн. орган. химии. 2022. Т. 58, № 11. С. 1214–1223.
- 13 Мельянцова Л. П. Влияние фосфатидилхолинхолестерин-новых липосом на рост некоторых бактериальных культур // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1994. № 2. С. 14–17.
- 14 Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
- 15 Орехович В. Н. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. 392 с.
- 16 Frengki, Putra D. P., Wahyuni F. S., Khambri D., Vanda H., Sofia V. Potential antiviral of catechins and their derivatives to inhibit SARS-CoV-2 Receptors of M^{PPO} protein and spike glycoprotein in COVID-19 through the *in silico* approach // Jurnal Kedokteran Hewan. 2020. Vol. 14, No. 3. P. 59–65.
- 17 Балакин К. В., Иваненков К. В. Компьютерные методы прогнозирования метаболизма физиологически активных веществ // Биомед. химия. 2005. Т. 51, № 4. С. 384–412.
- 18 Umar A. B., Uzairu A., Shallangwa G. A., Uba S. *In silico* evaluation of some 4-(quinolin-2-yl)pyrimidin-2-amine derivatives as potent V600E-BRAF inhibitors with pharmacokinetics ADMET and druglikeness predictions // Future J. Pharm. Sci. 2020. Vol. 6. Art. 61.