

## Пошук антиоксидантів серед похідних S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну

О. А. Бражко, Л. О. Омелянчик, Д. М. Федоряк<sup>1</sup>, І. Ф. Беленічев,  
М. П. Завгородній

Запорізький державний університет  
Вул. Жуковського, 66, Запоріжжя, 69600, Україна

<sup>1</sup> Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України  
Вул. Мурманська, 1, Київ, 02094, Україна

---

*Вивчено токсичну, антиоксидантну та церебропротективну дію ряду похідних S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну. Показано, що всі досліджені сполуки нормалізують рівень антиоксидантних ферментів, зменшують вміст продуктів вільнорадикального окислення та за показниками активності перевищують відомий антиоксидант дибунол. Встановлено, що їхня активність значною мірою залежить від природи замісника в 6-му положенні хінолінового циклу.*

---

Вступ. Вільнорадикальне окислення (ВРО) як процес має місце в клітинному метаболізмі як за норми, так і при патологічних станах. ВРО є необхідною ланкою таких важливих біологічних процесів, як транспорт електронів у дихальному ланцюзі, синтез простагландинів та лейкотриєнів, метаболізм катехоламінів, проліферація та диференціація клітин, фагоцитоз, метаболізм лікарських препаратів [1—3]. У зв'язку зі складністю механізмів ВРО, участю в ньому багатьох чинників, пов'язаних між собою причинно-наслідковими стосунками має місце існування декількох класів антиоксидантів. До останніх відносять не лише речовини, які взаємодіють з ліпідними радикалами (істинні антиоксиданти), а й сполуки, що гальмують процеси ВРО, впливаючи на гідроліз ліпідів, синтез простагландинів та лейкотриєнів [4], на ферментні системи, які генерують активні форми кисню [5].

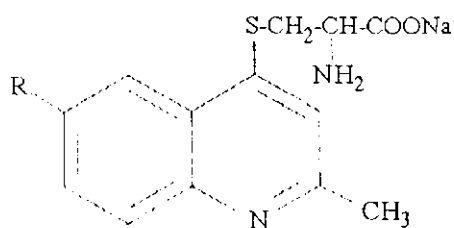
Антиоксидантні засоби, що використовуються в медицині та ветеринарії, за механізмом дії поділяються на такі групи: 1) інгібітори основних шляхів утворення активних форм кисню та реактиватори антиоксидантної системи; 2) інгібітори активних форм кисню; 3) інгібітори утворення гідро-

перекисів ліпідів та вільних радикалів аліфатичних кислот (істинні антиоксиданти); 4) хелатори металів змінної валентності; 5) інгібітори фосфоліпаз; 6) блокатори циклооксигеназного та ліпоксигеназного шляхів метаболізму арахідонової кислоти.

З усіх вищенаведених груп найважливіше значення мають прямі антиоксиданти [3]. До них відносять фенольні сполуки природного і синтетичного походження (токофероли, убихінони, поліфенольні рослинні комплекси, дибунол, фенозани); 3- та 6-оксипіридини, 1,4-дигідропіридини, а також аліфатичні і ароматичні сірковмісні сполуки (тіоли, церулоплазмін, селенметіонін).

У зв'язку зі структурною схожістю хінолінового циклу з хромановим (токофероли), з одного боку, і з похідними піридину, — з іншого (емоксипін, мексидол), становило інтерес вивчення антиоксидантних властивостей похідних хіноліну, які, окрім гетероциклу, мають у своїй структурі інші групи (карбоксилкільну, сульфідну, гідрокси, алкокси). Привернули до себе увагу похідні S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну, які на моделях ініціювання ВРО *in vitro* виявили значну антиоксидантну активність [6].

У даній роботі досліджували *in vivo* гостру токсичність та антиоксидантну дію натрієвих солей S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну. Вони мають структуру, наведену нижче на схемі.



де R = H (1); OH (2); OCH<sub>3</sub> (3); OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (4).

**Матеріали і методи.** Дослідження виконували на білих щурах лінії Вістар масою 200—250 г. Експериментальну ішемію головного мозку викликали односторонньою перев'язкою загальної сонної артерії шляхом виділення та накладання лігатури під нембуталовим наркозом (40 мг/кг).

Похідні хіноліну, синтезовані нами за методами, описаними в [7], вводили щодня протягом 4 діб після оперативного втручання внутрішньочеревинно в дозі 30 мг/кг, а препарат порівняння (дибунол) — підшкірно в дозі 25 мг/кг. Для біохімічних досліджень тканини ішемізованої напівкулі гомогенізували в охолодженому до температури 4 °С 0,15 М розчині KCl за допомогою скляного гомогенізатора. Цитозольну фракцію виділяли центрифугуванням при 15000 g. Ліпіди екстрагували за методом [8]. Безбілковий екстракт отримували додаванням точної наважки гомогенату тканини в хлорну кислоту (0,6 М) та подальшою нейтралізацією 5 М K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Інтенсивність ВРО оцінювали за накопиченням у тканинах початкових, проміжних та кінцевих метаболітів цього процесу — дієнових кон'югатів (ДК) [9, 10], триєнкетонів (ТК) [10] і малонового діальдегіду (МДА) [11]. Стан антиоксидантної системи організму оцінювали за актив-

ністю супероксиддисмутази (СОД) [12], каталази [13], глутатіонпероксидази (ГПР) [14] та вмісту α-токоферолу [15]. За критерій ішемічного пошкодження тканин було взято показники гіперферментемії ізоферментів креатинфосфокінази (ВВ-КФК) [16].

Гостру токсичність визначали в дослідах на білих безпородних мишах масою 20—25 г за методом Кербера [17].

**Результати і обговорення.** Гостра токсичність досліджених сполук значною мірою визначається природою замісника в 6-му положенні хінолінового циклу (табл. 1) і зменшується в ряду: H > OH > OCH<sub>3</sub> > OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (див. схему). Сполуки 3 та 4, які мають у структурі відповідно метокси- та етоксигрупи, за токсичністю наближаються до практично нетоксичних речовин.

Відомо, що перев'язка загальної сонної артерії призводить до активації реакцій гліколізу та енергодефіциту [6]. Це сприяє фосфорилуванню клітинних мембран та їхньому ушкодженню в реакціях ВРО. Моделювання експериментальної ішемії головного мозку супроводжувалося зниженням активності антиоксидантних ферментів — СОД на 63 %, каталази — на 56 %, ГПР — на 38 % (табл. 2). Одночасно спостерігалось зниження рівня α-токоферолу на 51 % (табл. 1), що могло спричинювати подальше ініціювання процесів ВРО за умов кисневого дефіциту. При цьому на четверту добу експерименту в тканинах головного мозку спостерігалось збільшення ДК на 175 %, ТК — на 156 %, МДА — на 200 % (табл. 3). Ушкодження цілісності мембран клітин призводило до зростання активності церебральної ізоформи ВВ-КФК у сироватці крові на 87 %.

Таблиця 1

Гостра токсичність та вплив похідних хіноліну на вміст ендogenous α-токоферолу і активність церебрального ізоензиму креатинфосфокінази

Сполука (див. схему)	α-Токоферол	Відсоток змін	Креатинфосфокіназа, мкмоль · л <sup>-1</sup> · год <sup>-1</sup>	Відсоток змін	ЛД50, мг/кг
Інтактні тварини	4,31 ± 0,11	—	0,071 ± 0,001	—	—
Контроль	2,11 ± 0,07	-51,0	0,123 ± 0,002	+87,3	—
1	3,01 ± 0,07**	+40,9	0,091 ± 0,006**	-61,5	67,5 ± 9,1
2	2,61 ± 0,07	+22,7	0,100 ± 0,001	-44,2	377,6 ± 23,1
3	2,87 ± 0,03**	+34,5	0,110 ± 0,002**	-25,0	880,6 ± 42,7
4	2,84 ± 0,04**	+33,2	0,092 ± 0,002**	-59,6	982,3 ± 53,4
Дибунол	2,98 ± 0,04**	+35,0	0,112 ± 0,002**	-21,2	—

Примітка. \*Тут і в табл. 2, 3 розраховували за формулою  $[(X_c - X_k)/(X_i - X_k)] \cdot 100$  %, де X<sub>c</sub> — показник для сполуки, X<sub>k</sub> — контроль, X<sub>i</sub> — інтактних тварин; \*\*різниця достовірна у порівнянні з контролем, p < 0,05.

Таблиця 2  
Вплив похідних хіноліну на активність антиоксидантних ферментів

Сполука (див. схему)	Супероксиддисмутаза, ум. од. мг білка <sup>-1</sup> хв <sup>-1</sup>	Відсоток змін	Каталаза, мккат. мг білка <sup>-1</sup> хв <sup>-1</sup>	Відсоток змін	Глутатіонпероксидаза, мкмоль мг білка <sup>-1</sup> хв <sup>-1</sup>	Відсоток змін
Інтактні тварини	263,4±12,0	—	14,3±1,03	—	98,1±7,5	—
Контроль	97,3±7,5	-63,1	6,3±0,7	-55,9	60,5±4,2	-38,3
1	260,5±12,6*	+98,3	10,8±0,1*	+56,3	87,5±4,1*	+71,8
2	158,6±17,6	+36,9	11,6±0,5	+66,3	77,6±3,1	+45,5
3	185,1±10,5*	+52,9	9,5±0,3*	+40,0	80,6±2,7*	+53,5
4	196,1±13,4	+59,5	9,8±0,4	+43,8	82,3±3,1	+60,0
Дибунол	102,4±10,4	+3,1	7,2±0,09	+11,3	68,8±5,2	+22,1

Таблиця 3  
Вплив похідних хіноліну на вміст продуктів вільнорадикального окислення

Сполука (див. схему)	Ліпонові кон'югати, мкмоль/г	Відсоток змін	Триенкетони, мкмоль/г	Відсоток змін	Малоновий діальдегід, мкмоль/г	Відсоток змін
Інтактні тварини	2,11±0,07	—	0,52±0,02	—	0,42±0,03	—
Контроль	5,81±0,11	+175,0	1,33±0,10	+155,8	1,26±0,12	+200,0
1	3,15±0,06*	-71,3	0,88±0,04*	-55,5	0,73±0,03*	-43,1
2	3,87±0,08*	-52,4	0,92±0,07	-50,6	0,97±0,09	-34,5
3	3,52±0,07*	-61,9	0,84±0,02*	-61,1	0,81±0,07*	-53,6
4	3,38±0,06*	-65,7	0,81±0,04*	-64,2	0,79±0,03*	-56,0
Дибунол	4,00±0,33	-48,9	0,97±0,05	-44,4	1,00±0,04	-21,2

В результаті порівняння даних експерименту з даними літератури показано, що недостача кровообігу і зупинення доступу кисню до тканин головного мозку викликають швидке гальмування реакцій циклу Кребса, перемикання енергетичного обміну на шлях гліколізу з інтенсивним використанням резервів та активацією ВРО [6].

Отримані результати свідчать, що всі досліджені натрієві солі S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну нормалізують рівень антиоксидантних ферментів, зменшують вміст продуктів ВРО та за всіма показниками перевищують відомий антиоксидант дибунол (табл. 2, 3). Усі досліджені похідні хіноліну підвищують рівень ендogenous антиоксиданта  $\alpha$ -токоферолу, а також маркера ішемічного пошкодження тканин — церебральної ізоформи креатинфосфокінази (табл. 1).

Серед досліджених речовин у більшості випадків спостерігається тенденція до росту антиоксидантної та церебропротективної дії в залежності від природи замісника в 6-му положенні хінолі-

нового циклу в ряду:  $\text{OH} < \text{OCH}_3 \leq \text{OC}_2\text{H}_5 < \text{H}$ . При цьому найвираженіший антиоксидантний ефект проявляють сполуки 1 та 4, які містять відповідно атом водню та етоксигрупу, що, напевно, пов'язано з їхньою більшою ліпсфільністю. Вони підвищують активність СОД на 48 і 60 %, каталази на 56 і 44 %, ГПР на 72 і 60 % відповідно і за ефективністю перевищують дибунол (табл. 2). Слід відзначити, що серед досліджених сполук найефективнішою щодо каталази виявилася сполука 2, яка має в своїй структурі фенольний гідроксил з потенційно високими антиоксидантними властивостями. В механізмі антиоксидантної дії 4-тіопохідних хінальдину закладена їхня можливість пригнічувати вільні форми кисню. Захисна дія тіопохідних хіноліну реалізується на ініціативних етапах розвитку ВРО за рахунок реактивації антиоксидантного комплексу і, як наслідок, гальмування основних шляхів утворення активних форм кисню, які збільшують ініціативність вільнорадикальних процесів при ішемії.

Вищевикладене свідчить про перспективність пошуку речовин з антиоксидантною та протиішемічною дією як серед 4-тіопохідних хіноліну, так і серед інших S-заміщених L-цистеїну.

A. A. Brazhko, I. A. Omelyanchik, D. M. Fedoryak,  
I. F. Belenichev, M. P. Zavgorodny

Search for antioxidants among derivatives of S-(quinaldine-4-yl)-L-cysteine

#### Summary

Toxic, antioxidant and cerebroprotective activities of several derivatives of S-(quinaldine-4-yl)-L-cysteine have been studied. It has been shown, that all investigated compounds normalize a level of antioxidant enzymes, reduce the products of free radical oxidation and their activity exceed a known antioxidant dibunole. It has been established, that their activity substantially depends on a nature of the substituent in the position 6 of a quinoline cycle.

A. A. Бражко, Л. А. Омелянчик, Д. М. Федоряк,  
И. Ф. Беленичев М. П. Завгородний

Поиск антиоксидантов среди производных S-(хинальдинил-4)-L-цистеина

#### Резюме

Изучено токсическое, антиоксидантное и церебропротективное действие ряда производных S-(хинальдинил-4)-L-цистеина. Показано, что все исследованные соединения нормализуют уровень антиоксидантных ферментов, снижают содержание продуктов свободнорадикального окисления и по показателям активности превышают известный антиоксидант дибунол. Установлено, что их активность в значительной степени зависит от природы заместителя в 6-м положении хинолинового цикла.

#### ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Биленко М. В., Тельпухов В. И., Уракова Т. Д. Влияние ишемии и реперфузии головного мозга крыс на процессы перекисного окисления липидов и защитный эффект антиоксидантов // Эксперим. биология и медицина.—1988.—№ 4.—С. 394—396.
2. Бобырев В. Н. Свободнорадикальное окисление в патогенезе заболеваний, сопряженных со старением // Пат. физиология и эксперим. терапия.—1989.—№ 5.—С. 90—94.
3. Воскресенский О. Н. Влияние природных биооксидантов на патологические процессы, связанные со старением // Общие проблемы биологии.—М.: ВНИИТИ, 1986.—Вып. 6.—С. 163—201.
4. Перекисное окисление липидов в норме и патогенезе различных заболеваний: Сб. научн. трудов / Под ред. М. И. Агаджанова.—Ереван: Анастан, 1988.—220 с.
5. Stoklazove A. Defense against the toxic action of oxygen // Sb. ved. pr. lieh. UK Hradec Kralone.—1989.—135, N 1.—P. 157—158.
6. Беленичев И. Ф., Коваленко С. И., Бражко О. А., Карпенко О. В. Дослідження антиоксидантної дії хіназоліл-4-(хіноліл-4)- $\alpha(\beta)$ -карбонових кислот *in vitro* та їх похідних за умов ініціювання вільнорадикальних процесів та моделювання ішемії головного мозку // Ліки.—2001.—№ 5—6.—С. 28—33.
7. Омелянчик Л. О., Бражко О. А., Рильський О. Ф. Пошук біологічно активних речовин на основі S-(хінальдиніл-4)-L-цистеїну // Вісн. Запорізького держ. університету.—1999.—№ 1.—С. 190—194.
8. Кейтс Р. Методы липидологии.—М.: Мир, 1974.—370 с.
9. Дунаев В. В., Беленичев И. Ф., Коваленко С. И. Антирадикальная и антиокислительная активность производных 1, 2, 4-триазола и хиназолина при ишемии головного мозга // Укр. биохим. журн.—1996.—68, № 1.—С. 100—104.
10. Коган В. С., Орлов О. Н., Прилико Л. Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов.—М.: Медицина, 1988.—287 с.
11. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело.—1988.—№ 11.—С. 41—46.
12. Чевари С., Чаба И., Сеней Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале // Лаб. дело.—1988.—№ 11.—С. 678—681.
13. Королюк М. А. Способ определения активности каталазы // Лаб. дело.—1988.—№ 1.—С. 16—19.
14. Гаврилова А. Р., Хмара Н. Ф. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстрата // Лаб. дело.—1986.—№ 12.—С. 721—723.
15. Беленичев И. Ф. Способ определения  $\alpha$ -токоферола в биологическом материале // Тез. докл. IV съезда специалистов по лабораторной клинической диагностике республики Беларусь.—Гродно, 1992.—72 с.
16. Яровая Г. А. Распределение изоферментов методом обменной хроматографии // Методы разделения и анализа в биохимии.—М.: РИО УИОЛУВ, 1982.—С. 37—40.
17. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ.—М.: Медицина, 1974.—143 с.

УДК 616.27:547.831

Надійшло до редакції 07.02.02